

รายการอ้างอิง



- Aktan, F., Hennes, S., Roufogalis, B.D., and Ammit, A.J. (2003). Gypenosides derived from *Gynostemma pentaphyllum* suppress NO synthesis in murine macrophages by inhibiting iNOS enzymatic activity and attenuating NF-kappaB-mediated iNOS protein expression. *Nitric Oxide* 8, 235-242.
- Albina, J.E., Cui, S., Mateo, R.B., and Reichner, J.S. (1993). Nitric oxide-mediated apoptosis in murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 150, 5080-5085.
- Anderson, A.S., and Wellington, E.M. (2001). The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 797-814.
- Atta, H.M., Abul-Hamd, A.T., and Radwan, H.G. (2009). Production of destomycin-A antibiotic by *Streptomyces* sp. using rice straw as fermented substrate. *Commun Agric Appl Biol Sci* 74, 879-897.
- Barreiro, C., Prieto, C., Sola-Landa, A., Solera, E., Martinez-Castro, M., Perez-Redondo, R., Garcia-Estrada, C., Aparicio, J.F., Fernandez-Martinez, L.T., Santos-Aberturas, J., et al. (2012). Draft Genome of *Streptomyces tsukubaensis* NRRL 18488, the Producer of the Clinically Important Immunosuppressant Tacrolimus (FK506). *J Bacteriol* 194, 3756-3757.
- Bewick, M.W., Williams, S.T., and Veltkamp, C. (1976). Growth and ultrastructure of *Streptomyces venezuelae* during chloramphenicol production. *Microbios* 16, 191-199.
- Box, S.J., Cole, M., and Yeoman, G.H. (1973). Prasinons A and B: potent insecticides from *Streptomyces prasinus*. *Appl Microbiol* 26, 699-704.
- Campbell, W.C., Fisher, M.H., Stapley, E.O., Albers-Schonberg, G., and Jacob, T.A. (1983). *Ivermectin: a potent new antiparasitic agent*. *Science* 221, 823-828.
- Carol, H., Nieto, A., Villacres-Eriksson, M., and Morein, B. (1997). Intranasal immunization of mice with *Echinococcus granulosus* surface antigens iscoms evokes a strong immune response, biased towards glucidic epitopes. *Parasite Immunol* 19, 197-205.
- Castillo, U., Harper, J.K., Strobel, G.A., Sears, J., Alesi, K., Ford, E., Lin, J., Hunter, M., Maranta, M., Ge, H., et al. (2003). Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces*

- sp NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiol Lett* 224, 183-190.
- Christie, M.J., Vaughan, C.W., and Ingram, S.L. (1999). Opioids, NSAIDs and 5-lipoxygenase inhibitors act synergistically in brain via arachidonic acid metabolism. *Inflamm Res* 48, 1-4.
- Darken, M.A., Berenson, H., Shirk, R.J., and Sjolander, N.O. (1960). Production of tetracycline by *Streptomyces aureofaciens* in synthetic media. *Appl Microbiol* 8, 46-51.
- Di Giuseppe, D., Di Simplicio, P., Capecchi, P.L., Lazzarini, P.E., and Pasini, F.L. (2003). Alteration in the redox state of plasma in heart-transplant patients with moderate hyperhomocysteinemia. *J Lab Clin Med* 142, 21-28.
- Esteves, I., Souza, I.R., Rodrigues, M., Cardoso, L.G., Santos, L.S., Sertie, J.A., Perazzo, F.F., Lima, L.M., Schneedorf, J.M., Bastos, J.K., et al. (2005). Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *J Ethnopharmacol* 101, 191-196.
- Farid, M.A., el-Enshasy, H.A., el-Diwany, A.I., and el-Sayed el, S.A. (2000). Optimization of the cultivation medium for natamycin production by *Streptomyces natalensis*. *J Basic Microbiol* 40, 157-166.
- Feghali, C.A., and Wright, T.M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci* 2, d12-26.
- Greenberg, S., and Grinstein, S. (2002). Phagocytosis and innate immunity. *Curr Opin Immunol* 14, 136-145.
- Griesbacher, T. (2000). Kallikrein-kinin system in acute pancreatitis: potential of B(2)-bradykinin antagonists and kallikrein inhibitors. *Pharmacology* 60, 113-120.
- Hart, P.H., Brand, C., Carson, C.F., Riley, T.V., Prager, R.H., and Finlay-Jones, J.J. (2000). Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res* 49, 619-626.
- Hatano, K., Nishii, T., and Kasai, H. (2003). Taxonomic re-evaluation of whorl-forming *Streptomyces* (formerly *Streptoverticillium*) species by using phenotypes, DNA-DNA hybridization and sequences of *gyrB*, and proposal of *Streptomyces luteireticuli* (ex

- Kato and Arai 1957) corrig., sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Evol Microbiol* 53, 1519-1529.
- Hazen, E.L., and Brown, R. (1960). Nystatin. *Ann N Y Acad Sci* 89, 258-266.
- He, H., Williamson, R.T., Shen, B., Graziani, E.I., Yang, H.Y., Sakya, S.M., Petersen, P.J., and Carter, G.T. (2002). Mannopectimycins, novel antibacterial glycopeptides from *Streptomyces hygroscopicus*, LL-AC98. *J Am Chem Soc* 124, 9729-9736.
- Hobbs, D.H., Kim, H.J., Chater, K.F., and Hills, M.J. (1997). Mutants of lipid synthesis in *Streptomyces coelicolor*. *Biochem Soc Trans* 25, S674.
- Huang, P., Han, J., and Hui, L. (2010). MAPK signaling in inflammation-associated cancer development. *Protein Cell* 1, 218-226.
- Ko, L., and Lagunoff, D. (1976). Depletion of mast cell ATP inhibits complement-dependent cytotoxic histamine release. *Exp Cell Res* 100, 313-321.
- Laan, W., Selten, J.P., Grobbee, D.E., Smeets, H., Kahn, R.S., and Burger, H. (2007). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of psychosis. *Eur Neuropsychopharmacol* 17, 309-311.
- Lechevalier, H., and Lechevalier, M.P. (1965). [Classification of aerobic actinomycetes based on their morphology and their chemical composition]. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 108, 662-673.
- Lee, S.O., Choi, G.J., Choi, Y.H., Jang, K.S., Park, D.J., Kim, C.J., and Kim, J.C. (2008). Isolation and characterization of endophytic actinomycetes from Chinese cabbage roots as antagonists to *Plasmodiophora brassicae*. *J Microbiol Biotechnol* 18, 1741-1746.
- Lilly, H.A., and Lowbury, E.J. (1978). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in a burns unit after stopping routine prophylaxis with erythromycin. *J Antimicrob Chemother* 4, 545-550.
- Manfio, G.P., Atalan, E., Zakrzewska-Czerwinska, J., Mordarski, M., Rodriguez, C., Collins, M.D., and Goodfellow, M. (2003). Classification of novel soil streptomycetes as *Streptomyces aureus* sp. nov., *Streptomyces laceyi* sp. nov. and *Streptomyces sanglieri* sp. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83, 245-255.

- Marcotte, E.M., Monzingo, A.F., Ernst, S.R., Brzezinski, R., and Robertus, J.D. (1996). X-ray structure of an anti-fungal chitosanase from *Streptomyces* N174. *Nat Struct Biol* 3, 155-162.
- McFadyean, J. (1889). The Morphology of the Actinomyces. *Br Med J* 1, 1339-1344.
- Meng, L., Kwok, B.H., Sin, N., and Crews, C.M. (1999). Eponemycin exerts its antitumor effect through the inhibition of proteasome function. *Cancer Res* 59, 2798-2801.
- Migliaccio, C.T., Hamilton, R.F., Jr., and Holian, A. (2005). Increase in a distinct pulmonary macrophage subset possessing an antigen-presenting cell phenotype and in vitro APC activity following silica exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 205, 168-176.
- Neveu, W.A., Allard, J.B., Dienz, O., Wargo, M.J., Ciliberto, G., Whittaker, L.A., and Rincon, M. (2009). IL-6 is required for airway mucus production induced by inhaled fungal allergens. *J Immunol* 183, 1732-1738.
- Nussler, A.K., and Billiar, T.R. (1993). Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 54, 171-178.
- Ochi, K. (1995). A taxonomic study of the genus *Streptomyces* by analysis of ribosomal protein AT-L30. *Int J Syst Bacteriol* 45, 507-514.
- Pereira, R., Medeiros, Y.S., and Frode, T.S. (2006). Antiinflammatory effects of tacrolimus in a mouse model of pleurisy. *Transpl Immunol* 16, 105-111.
- Pfaller, M.A. (2006). Flavophospholipol use in animals: positive implications for antimicrobial resistance based on its microbiologic properties. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56, 115-121.
- Punkum, C., (2007). Grouping of *Streptomyces* spp. isolated from soil in Wiangsa district, Nan province using 16S-ITS fingerprinting method. (A thesis of the degree of master of science program in industrial microbiology, department of microbiology, faculty of science, Chulalongkorn University).
- Qureshi, N., Vogel, S.N., Van Way, C., 3rd, Papasian, C.J., Qureshi, A.A., and Morrison, D.C. (2005). The proteasome: a central regulator of inflammation and macrophage function. *Immunol Res* 31, 243-260.
- Reynolds, S.E., and Workman, E.J. (1949). A phenomenon observed during the freezing of a non-homogeneous aqueous solution. *Nature* 164, 922.

- Rintala, H., Nevalainen, A., Ronka, E., and Suutari, M. (2001). PCR primers targeting the 16S rRNA gene for the specific detection of streptomycetes. *Mol Cell Probes* 15, 337-347.
- Robertsen, B. (2006). The interferon system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol* 20, 172-191.
- Rogers, T.O., and Birnbaum, J. (1974). Biosynthesis of fosfomycin by *Streptomyces fradiae*. *Antimicrob Agents Chemother* 5, 121-132.
- Saddler, J.M., and Horsey, P.J. (1987). The new generation gelatins. A review of their history, manufacture and properties. *Anaesthesia* 42, 998-1004.
- Sankaran, L., and Pogell, B.M. (1975). Biosynthesis of puromycin in *Streptomyces alboniger*: regulation and properties of O-demethylpuromycin O-methyltransferase. *Antimicrob Agents Chemother* 8, 721-732.
- Shoemaker, R.A., and Riddell, R.T. (1954). Staining *Streptomyces scabies* in lesions of common scab of potato. *Stain Technol* 29, 59-61.
- Song, J., Lee, S.C., Kang, J.W., Baek, H.J., and Suh, J.W. (2004). Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16S rRNA gene and 16S-23S rDNA internally transcribed spacer sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 54, 203-209.
- Taechowisan, T., Tuntiwachwuttikul, P., Lu, C., Shen, Y., Lumyong, S., and Taylor, W.C. (2007). Anti-inflammatory activity of 4-arylcoumarins from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Immunol Invest* 36, 203-211.
- Tani, K., Yasuoka, S., Ogushi, F., Asada, K., Fujisawa, K., Ozaki, T., Ogura, T., and Suzuki, K. (1991). [The role of thrombin on lung fibroblast growth and fibrosis in bleomycin-induced lung disorder]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 29, 211-219.
- Tobian, A.A., Potter, N.S., Ramachandra, L., Pai, R.K., Convery, M., Boom, W.H., and Harding, C.V. (2003). Alternate class I MHC antigen processing is inhibited by Toll-like receptor signaling pathogen-associated molecular patterns: *Mycobacterium tuberculosis* 19-kDa lipoprotein, CpG DNA, and lipopolysaccharide. *J Immunol* 171, 1413-1422.
- Toth, L., Maeda, M., Tanaka, F., and Kobayashi, K. (2001). Isolation and identification of pathogenic strains of *Streptomyces acidiscabies* from netted scab lesions of potato tubers in Hokkaido (Japan). *Acta Microbiol Immunol Hung* 48, 575-585.

- Umezawa, H., Ueda, M., Maeda, K., Yagishita, K., Kondo, S., Okami, Y., Utahara, R., Osato, Y., Nitta, K., and Takeuchi, T. (1957). Production and isolation of a new antibiotic: kanamycin. *J Antibiot (Tokyo)* 10, 181-188.
- Vezina, C., Kudelski, A., and Sehgal, S.N. (1975). Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokyo)* 28, 721-726.
- Waksman, S.A., and Schatz, A. (1943). Strain Specificity and Production of Antibiotic Substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 29, 74-79.
- Warren, J.J., and Hoskins, L.M. (1990). The development of NANDA's nursing diagnosis taxonomy. *Nurs Diagn* 1, 162-168.
- Williams, A.J., Dave, J.R., and Tortella, F.C. (2006). Neuroprotection with the proteasome inhibitor MLN519 in focal ischemic brain injury: relation to nuclear factor kappaB (NF-kappaB), inflammatory gene expression, and leukocyte infiltration. *Neurochem Int* 49, 106-112.
- Zhao, P.J., Fan, L.M., Li, G.H., Zhu, N., and Shen, Y.M. (2005). Antibacterial and antitumor macrolides from *Streptomyces* sp. Is9131. *Arch Pharm Res* 28, 1228-1232.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. อาหารแข็ง Mannitol Soybean (MS medium) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

(Hobbs et al., 1997)

ถั่วเหลืองบด (Soybean meal)	20	กรัม
Mannitol	20	กรัม
วุ้นผง (Agar)	20	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 800 ไมโครลิตร ปรับความเป็นกรดค้างให้เป็น 7.0 ถึง 9.0 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

2. อาหารเหลว C4 (C4 medium) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (Punkum 2007)

แป้ง (Starch)	10	กรัม
ยีสแห้งสกัด (Dry yeast extract)	4	กรัม
ถั่วเหลืองบด (Soybean meal)	25	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	2	กรัม
กลูโคส (Glucose)	20	กรัม
20% เนื้อสกัด (Beef extract)	1	มิลลิลิตร
5% K_2HPO_4	0.2	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 800 ไมโครลิตร ปรับความเป็นกรดค้างให้เป็น 7.2 ถึง 7.4 จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

3. อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle complete (DMEM complete media)

DMEM medium ที่มี L-glutamine	90	มิลลิลิตร
Fetal Bovine Serum (FBS)	10	มิลลิลิตร
Sodium pyruvate	1	มิลลิลิตร
HEPES	1	มิลลิลิตร
500U/ml Penicillin	10	ไมโครลิตร
0.4mg/ml Streptomycin	50	ไมโครลิตร

4. อาหารสำหรับแช่แข็งเซลล์ (Freezing media)

Complete media	90%
Hybrid max DMSO	10%

5. FBS inactivation

นำ FBS ไปต้มในอ่างน้ำที่มีอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

6. สารละลายบัฟเฟอร์ 1X PBS ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (สำหรับเลี้ยงเซลล์)

NaCl	8.0	กรัม
KCl	0.2	กรัม
(Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	3.63	กรัม
หรือ Na ₂ HPO ₄)	1.44	กรัม
KH ₂ PO ₄	0.24	กรัม

ละลายด้วยน้ำ Doubly deionized water (DDW) ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด
 ค่าให้เป็น 7.4 จากนั้น ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่า
 เชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

ภาคผนวก ข

1. สารละลาย 10% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Sodium dodecyl sulfate (SDS)	10	กรัม
------------------------------	----	------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อปริมาตร 80 มิลลิลิตร ที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อ SDS ละลายหมด ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

2. สารละลาย 5M NaCl ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

NaCl	215	กรัม
------	-----	------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อปริมาตร 800 มิลลิลิตร เมื่อ NaCl ละลายหมด ปรับปริมาตรด้วย DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3. 1M Tris-HCl pH 7.4 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Trisma base	121.1	กรัม
-------------	-------	------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดต่างให้เป็น 7.4 ด้วย HCl เข้มข้น แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

4. สารละลาย 5M Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) pH 8.0 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Ethylenediaminetetraacetic acid EDTA	186.1	กรัม
--------------------------------------	-------	------

Sodium hydroxide	20	กรัม
------------------	----	------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดต่างให้เป็น 7.4 ด้วย HCl เข้มข้น แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

5. 1X TE buffer

สารละลาย 1M Tris-HCl pH 7.4	5	เท่า
-----------------------------	---	------

สารละลาย 0.5M EDTA pH 8.0	1	เท่า
---------------------------	---	------

6. สารละลายบัฟเฟอร์ SET ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

สารละลาย 1M Tris-HCl pH 7.4	20	มิลลิลิตร
สารละลาย 0.5M EDTA pH 8.0	15	มิลลิลิตร
สารละลาย 5M NaCl	50	มิลลิลิตร

เติมน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

7. สารละลายบัฟเฟอร์ 50X TAE ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Trisma base	242	กรัม
Acetic acid	57.1	กรัม
สารละลาย 5M EDTA pH 8.0	100	มิลลิลิตร

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อปริมาตร 800 มิลลิลิตร เมื่อส่วนประกอบทั้งหมดละลาย จึงปรับ ปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

8. สารละลายบัฟเฟอร์ 1X TAE ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

สารละลายบัฟเฟอร์ 50X TAE	10	มิลลิลิตร
น้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ	990	มิลลิลิตร

9. สารละลาย RNase A ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

RNase A	10	มิลลิกรัม
---------	----	-----------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

10. 3M Sodium acetate ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Sodium acetate	246	กรัม
----------------	-----	------

ละลายด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ 800 มิลลิลิตร เมื่อส่วนประกอบทั้งหมดละลาย จึงปรับ ปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

11.	2% Agarose gel ปริมาตร 100 มิลลิลิตร		
	Agarose	2	กรัม
	บัฟเฟอร์ 1X TAE	100	มิลลิลิตร
	ละลายด้วยความร้อนจนกว่า Agarose จะละลายหมด		
12.	8% Separating Gel ปริมาตร 8 มิลลิลิตร		
	น้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ	4.326	มิลลิลิตร
	สารละลาย 40% Acrylamide and Bis-arylamide	1.6	มิลลิลิตร
	สารละลาย 1.5 M Tris-HCl pH 8.8	2	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% SDS	0.08	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% APS	0.08	มิลลิลิตร
	TEMED	0.004	มิลลิลิตร
13.	10% Separating Gel ปริมาตร 8 มิลลิลิตร		
	น้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ	3.836	มิลลิลิตร
	สารละลาย 40% Acrylamide and Bis-arylamide	2	มิลลิลิตร
	สารละลาย 1.5 M Tris-HCl pH 8.8	2	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% SDS	0.08	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% APS	0.08	มิลลิลิตร
	TEMED	0.004	มิลลิลิตร
14.	5% Stacking Gel ปริมาตร 2 มิลลิลิตร		
	น้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ	1.204	มิลลิลิตร
	สารละลาย 40% Acrylamide and Bis-arylamide	0.25	มิลลิลิตร
	สารละลาย 1.5 M Tris-HCl pH 6.8	0.504	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% SDS	0.02	มิลลิลิตร
	สารละลาย 10% APS	0.02	มิลลิลิตร
	TEMED	0.002	มิลลิลิตร

15. บัฟเฟอร์ 2X Laemmlı (SDS -dry) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

สารละลาย 1M Tris-HCl pH 6.8	1	มิลลิลิตร
	(ความเข้มข้นสุดท้าย 100 mM)	
สารละลาย 10% SDS	4	มิลลิลิตร (4% v/v)
99.5% Glycerol	2.01	มิลลิลิตร (20% v/v)
น้ำ HPLC	2.989	มิลลิลิตร
Bromphenol blue	0.001	มิลลิลิตร
2-mercaptoethanol	10%	v/v

16. รีเอเจนต์ และบัฟเฟอร์สำหรับสก็ดโปรตีน

16.1 บัฟเฟอร์ A ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

สารละลาย EDTA	1	มิลลิลิตร
สารละลาย DTT	1	มิลลิลิตร
สารละลาย 500 mM Tris-HCl pH 7.2	1	มิลลิลิตร
สารละลาย 1.4 M KCl	1	มิลลิลิตร
สารละลาย 25 mM MgCl ₂	1	มิลลิลิตร
น้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ	5	มิลลิลิตร

16.2 บัฟเฟอร์ B ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

บัฟเฟอร์ A	990	ไมโครลิตร
Nonidet p-40	10	ไมโครลิตร

17. รีเอเจนต์ และบัฟเฟอร์สำหรับ western blot

17.1 บัฟเฟอร์ PBST

บัฟเฟอร์ 1X PBS	500	มิลลิลิตร
Tween20	250	ไมโครลิตร

17.2 สารละลาย Blocking

3% Non-fat dry milk ละลายด้วยบัฟเฟอร์ 1X PBS

17.3 บัฟเฟอร์ 5X Running ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Trisma base	15.1	กรัม
Glycine	94	กรัม
SDS	5	กรัม

ละลายด้วยน้ำ DDW ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

17.4 บัฟเฟอร์ Transfer ปริมาตร 1000 ml

Trisma base	5.08	กรัม
Glycine	2.9	กรัม
SDS	0.37	กรัม

ละลายด้วยน้ำ DDW ปริมาตร 800 มิลลิลิตร และเติมเมทานอลเข้มข้นปริมาตร 200 มิลลิลิตร

18. รีเอเจนต์ และบัฟเฟอร์สำหรับเตรียม Chemiluminescence detection**18.1 Substrate of HRP**

1.) 90 mM Coumaric acid ละลายด้วย DMSO แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ ในที่มืดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.) 250 mM Luminol แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร เก็บไว้ ใน ที่ มี ด ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

18.2 สารละลาย A

สารละลาย 100 mM Tris-HCl pH 8.5 (store 4 °C)	2.5	มิลลิลิตร
สารละลาย 90 mM Coumaric acid	11	มิลลิลิตร
สารละลาย 250 mM Luminol	25	มิลลิลิตร

18.3 สารละลาย B

สารละลาย 100 mM Tris-HCl pH 8.5 (store at 4 °C)	2.5	มิลลิลิตร
30% H ₂ O ₂	1.5	มิลลิลิตร

19. รีเอเจนต์ และบัฟเฟอร์สำหรับ MTT assay

19.1 0.04% HCl isopropanol 100 ml

Isopropanol	80	มิลลิลิตร
HCl	0.04%	(w/v)

Adjusted the volume to 100 ml with isopropanol

19.2 สารละลาย MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อไมโครลิตร ละลายใน 1X PBS

MTT	5	มิลลิกรัม
-----	---	-----------

ละลายด้วย บัฟเฟอร์ 1X PBS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร แบ่งใส่หลอดไมโครเซนตริจิวจ์ เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

20. รีเอเจนต์ และบัฟเฟอร์สำหรับ inflammation assay (Griess reaction)

20.1 สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (store at 4° C)

เตรียมสารละลาย Sulfanilamide ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 1% (w/v) และเติม phosphoric acid ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DDW ที่ปลอดเชื้อ

20.2 สารละลาย NED ปริมาตร 50 ml (store at 4° C)

เตรียมสารละลาย NED 0.1% (w/v) was dissolved with 50 ml sterile deionized water

20.3 สารละลาย Standard nitrite

เตรียม Sodium nitrite ความเข้มข้น 0.1 M เพื่อใช้เตรียม Standard เก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส

20.4 สารละลาย LPS จาก *Salmonella* ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

LPS เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	10	ไมโครลิตร
น้ำ endotoxin free	990	ไมโครลิตร

เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

20.5 สารละลาย 10% BSA ใน สารละลายบัฟเฟอร์ 1X PBS

ละลายสารละลาย BSA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 1X PBS ที่ปลอดเชื้อ ในอัตราส่วนสารละลาย BSA ต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1X PBS 1: 9 จากนั้นกรองผ่านหัวกรองขนาด 0.4 ไมโครเมตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

20.6 สารละลาย IFN- γ ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

IFN- γ เข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	10	ไมโครลิตร
10% BSA ใน สารละลายบัฟเฟอร์ 1X PBS	990	ไมโครลิตร
เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส		

21. สารละลายสำหรับ Dipping สำหรับ TLC detection

Distilled water	900	มิลลิลิตร
H ₂ SO ₄	45	มิลลิลิตร
Ammonium Molybdate	45	กรัม
Cesium (Ce(SO ₄))	1.8	กรัม

22. ชุดสกัดแยกดีเอ็นเอออกจากเจล agarose (QIAquick Gel Extraction Kit(Qiagen))

ประกอบด้วย

สารละลายบัฟเฟอร์ QG

สารละลายบัฟเฟอร์ PE

สารละลายบัฟเฟอร์ EB

คอลัมน์ QIAquick

ก่อนใช้ชุดสกัดในครั้งแรกต้องเติมเมทานอลเข้มข้นปริมาตร 24 มิลลิลิตรลงในสารละลายบัฟเฟอร์ PE

23. โครมาโตกราฟี

23.1 Thin-layer chromatography (TLC)

แผ่น TLC aluminium sheet เคลือบด้วย silica gel F254 (Merck) ตรวจสอบผลภายใต้แสง ultraviolet ที่ความยาวคลื่น 254 หรือ 356 นาโนเมตร และโดยการวิเคราะห์ด้วยการจุ่มใน สารละลาย $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ ที่ละลายใน 5% $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{EtOH}$ (ภาคผนวก ข)

23.2 Column chromatography

ใช้ Sephadex LH-20 (Pharmacia Code No. 17-0090-01) และ Silica gel 60H (Merck code No. 7734 และ No. 9385) ในการดำเนินการทดลองและวิเคราะห์

23.3 Nuclear magnetic resonance spectrometer (NMR)

วิเคราะห์ด้วย NMR โดยละลายสารใน CDCl_3 และใช้เครื่อง Bruker AV400 spectrometer ที่ความยาวคลื่น 400 MHz สำหรับการศึกษาค่า ^1H NMR และใช้ TMS (Tetramethylsilane) เป็น internal standard

23.4 Mass spectrometer (MS)

สเปกตรัม HRESIMS วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง MOLDI-TOF mass spectrometer

24. ตัวทำละลายสำหรับโครมาโตกราฟี

24.1 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน (hexane), คลอโรฟอร์ม (chloroform ; CHCl_3), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane ; CH_2Cl_2), เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate ; EtOAc), อะซิโตน (acetone) และ เมทานอล (methanol ; MeOH) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น

สารที่ใช้ในการเตรียมสารสำหรับการศึกษาค่าด้วย NMR ใช้สารละลาย deuteriochloroform (CDCl_3) ในการเตรียม

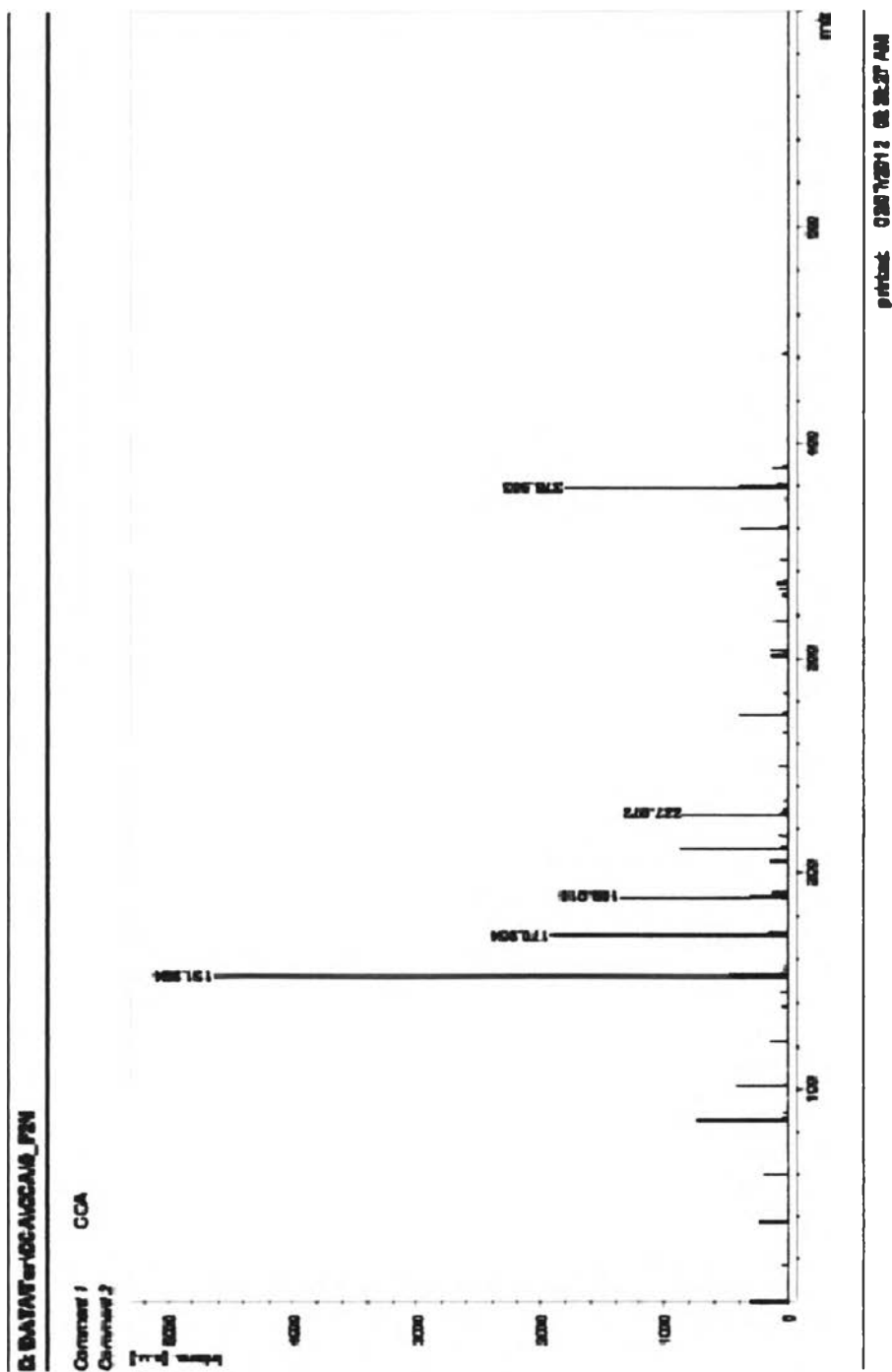
24.2 ซิลิกาเจลโครมาโตกราฟี

ใช้ silica gel 60 No. 7734 and No. 9385 (Merck[®], Germany) ในการเตรียมคอลัมน์สำหรับ คอลัมน์เปิด column chromatography และใช้ Resin (Merck[®], Germany) สำหรับการเตรียมคอลัมน์ reverse phase column chromatography

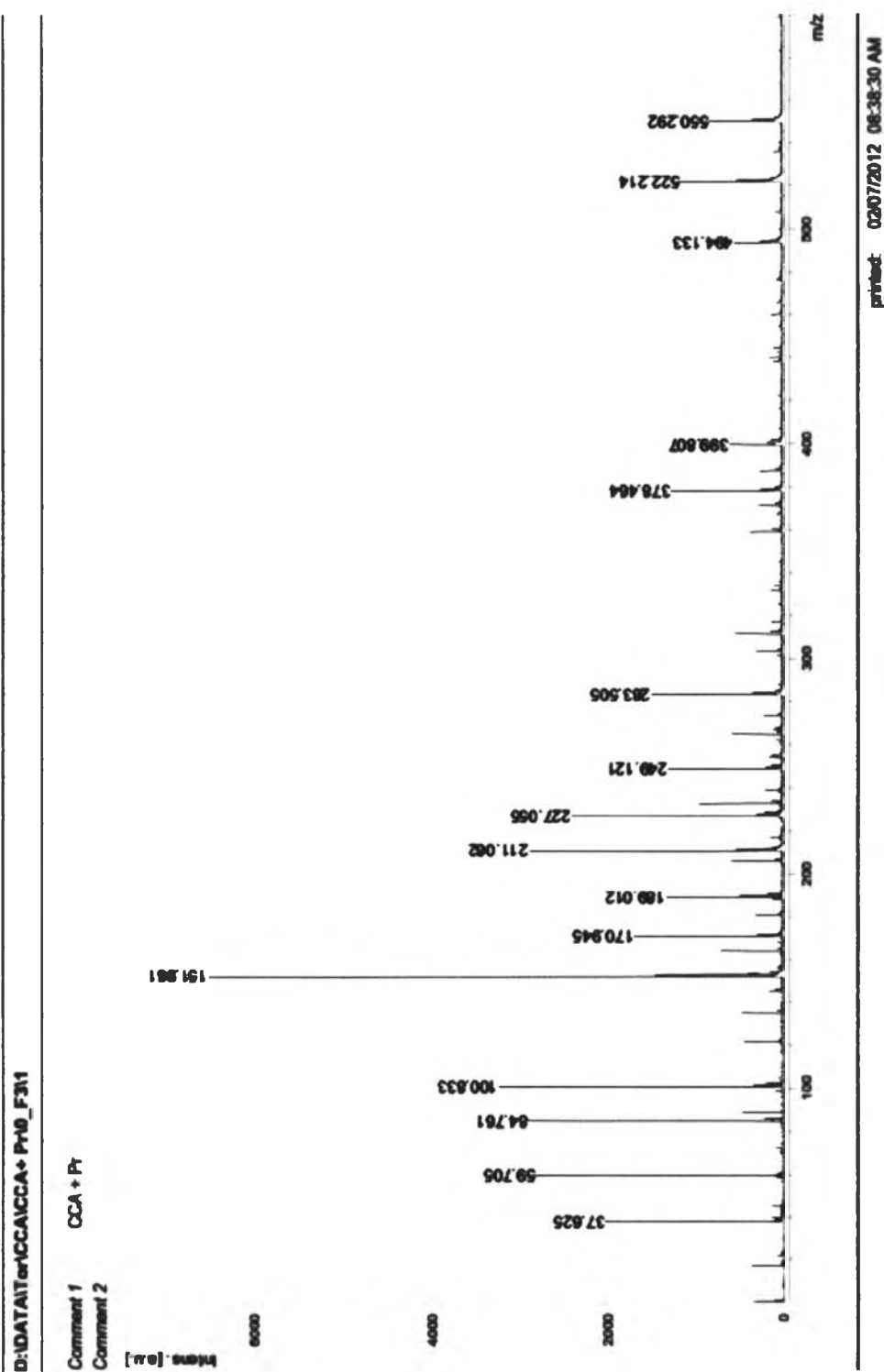
ภาคผนวก ก

สเปกตรัม MALDI-TOF mass spectrometry ของสารสกัดส่วนย่อย A6B5 จากการคัดแยกจาก *Streptomyces* spp. O245704

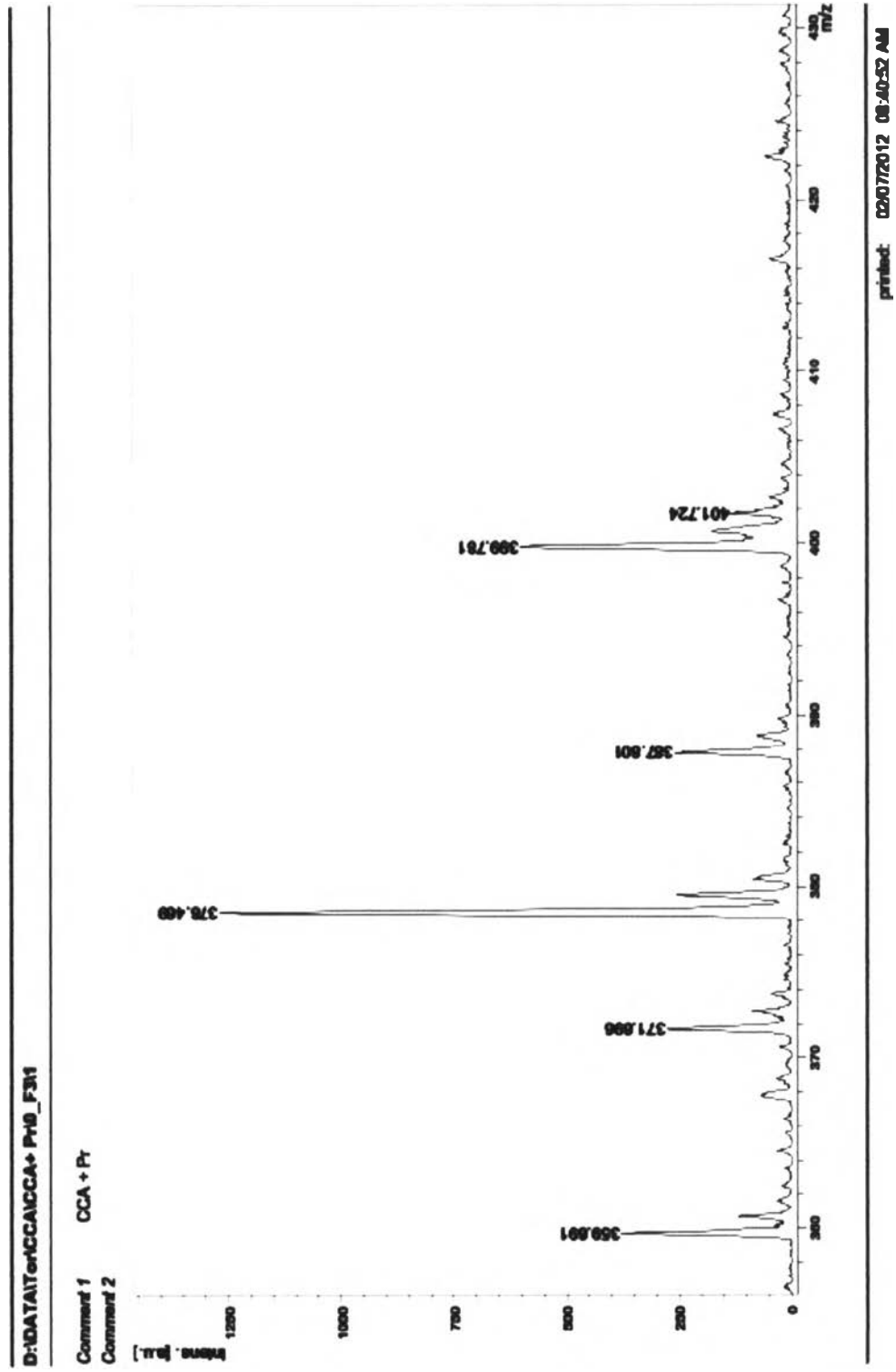
1. สเปกตรัม CCA



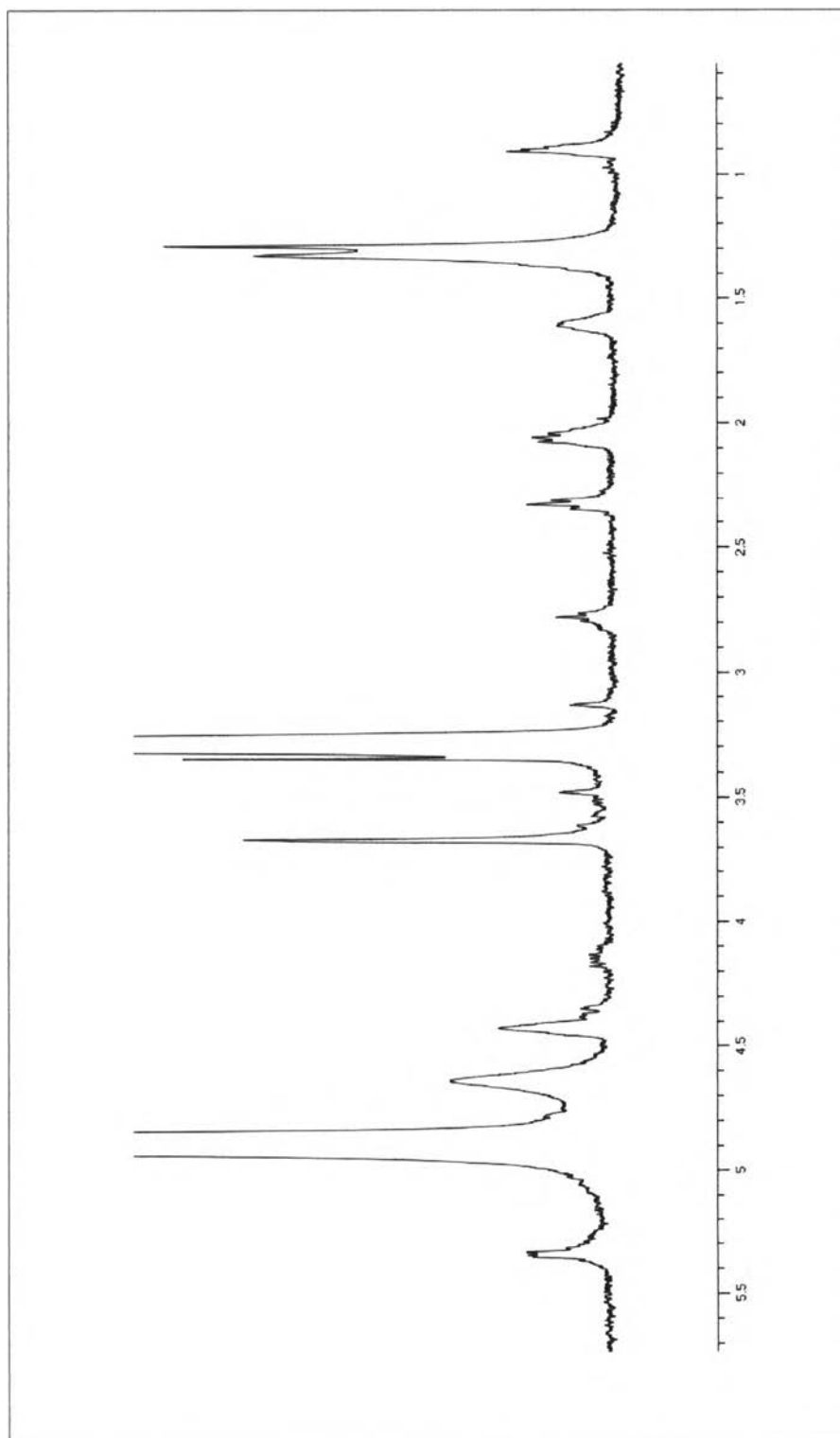
2. สเปกตรัม CCA+Pr



3. สเปกตรัม CCA+Pr2

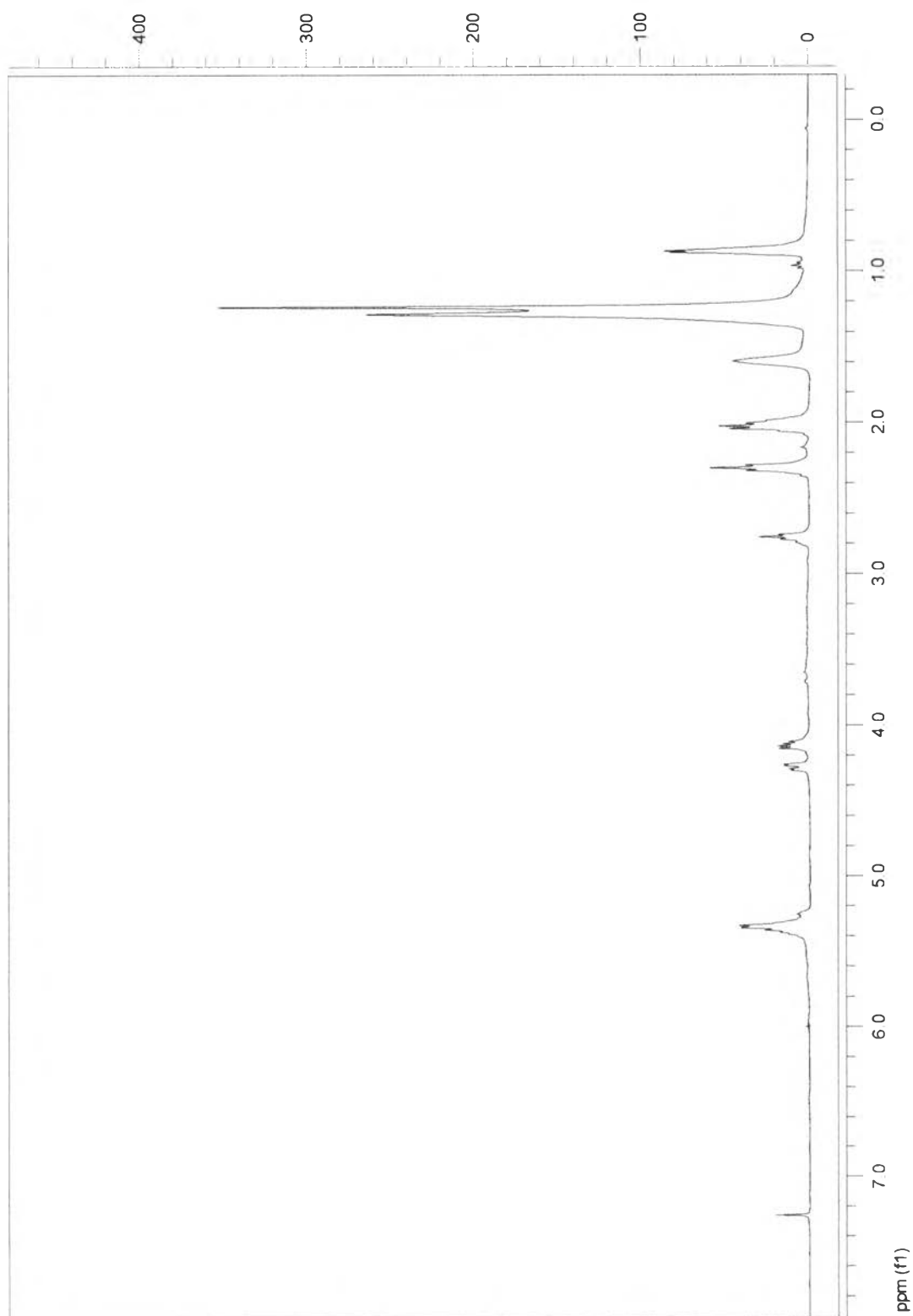


สเปกตรัม ^1H NMR สเปกตรา ของสารสกัดส่วนย่อย A6B5 จากการคัดแยกจาก *Streptomyces* spp.
O245704

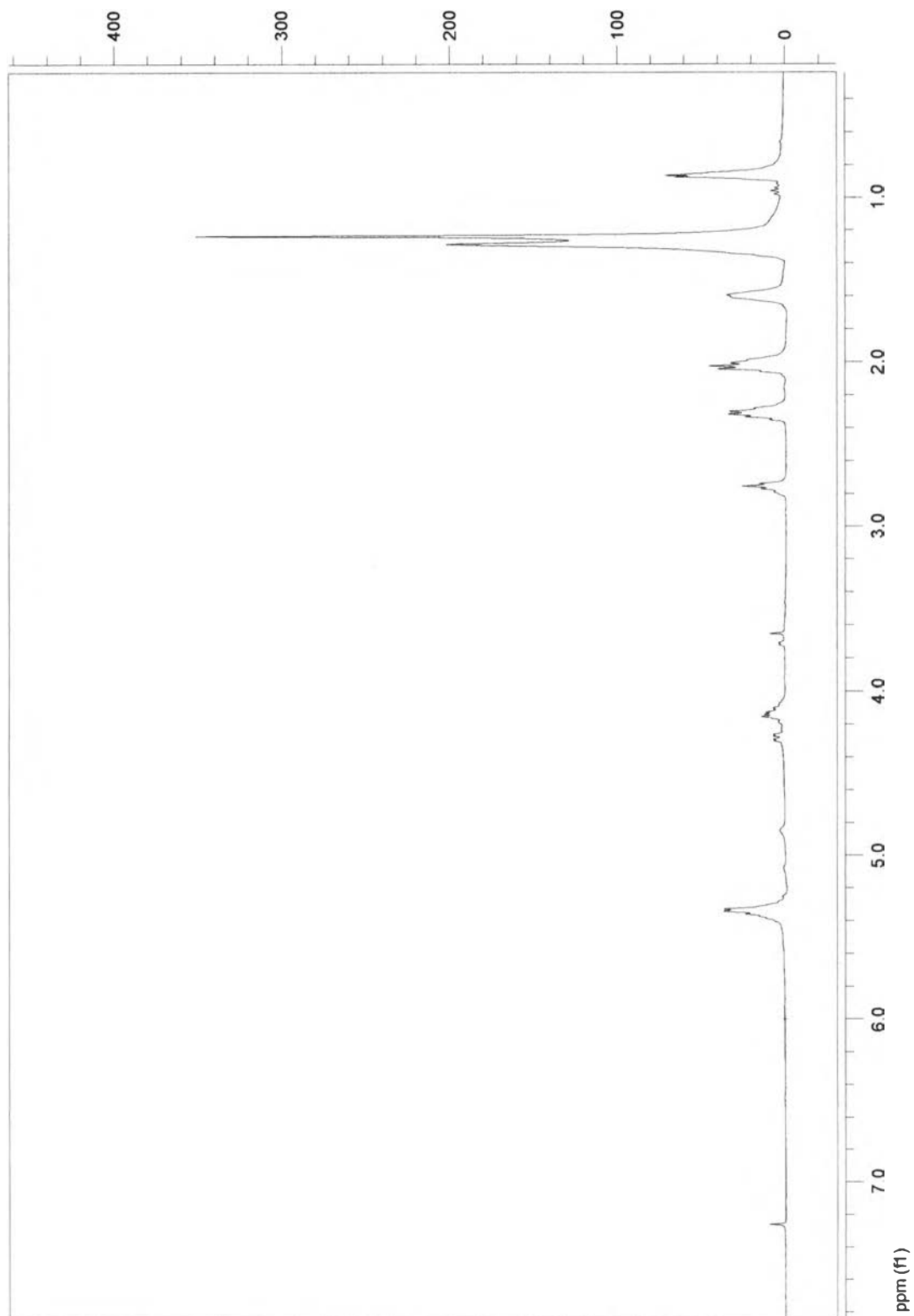


สเปกตรัม ^1H NMR สเปกตรา ของสารสกัดจากการคัดแยกจาก *Streptomyces* spp. D245704

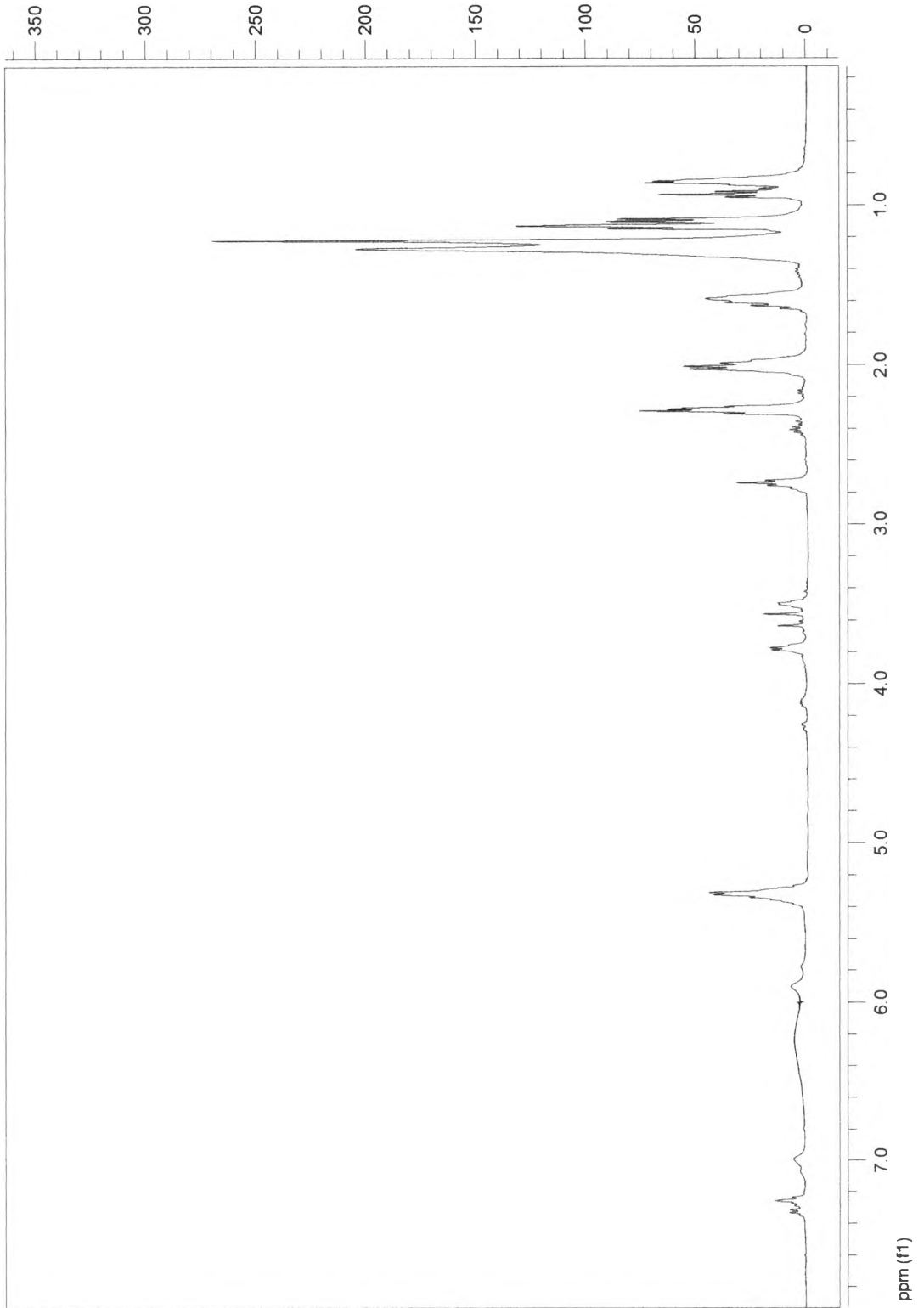
1. ส่วนย่อย P1



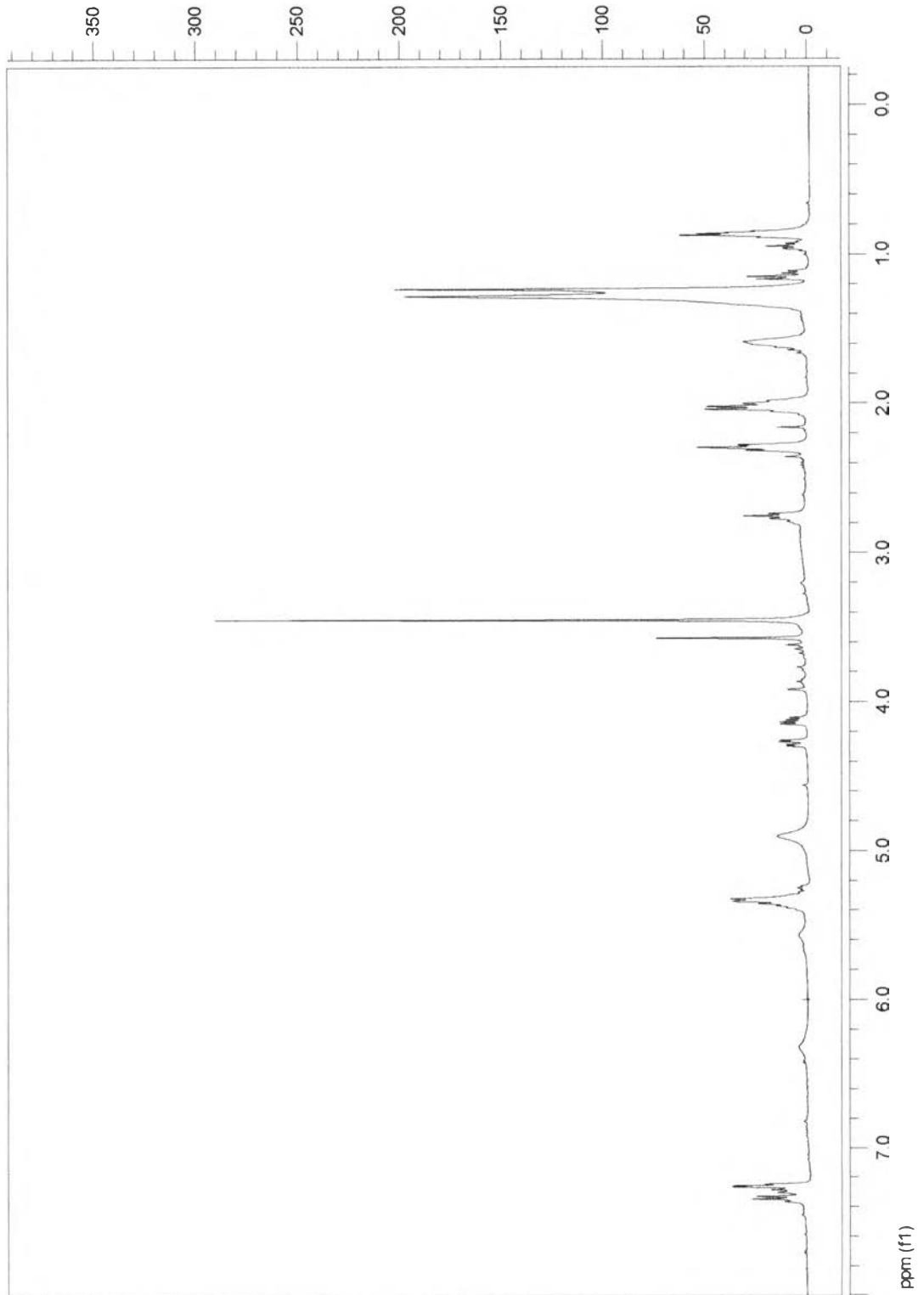
2. ส่วนย่อย P2



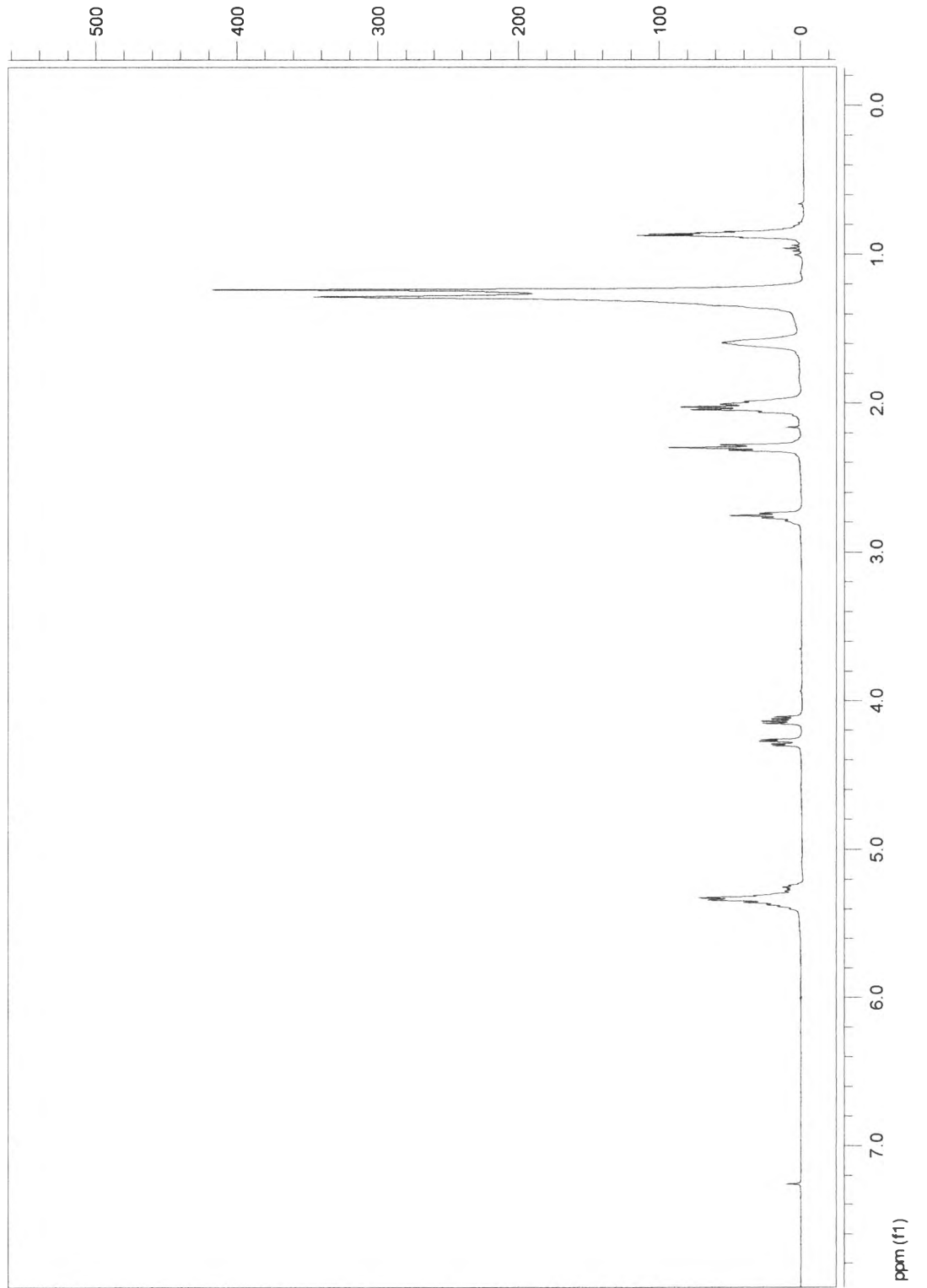
3. ส่วนย่อย P3



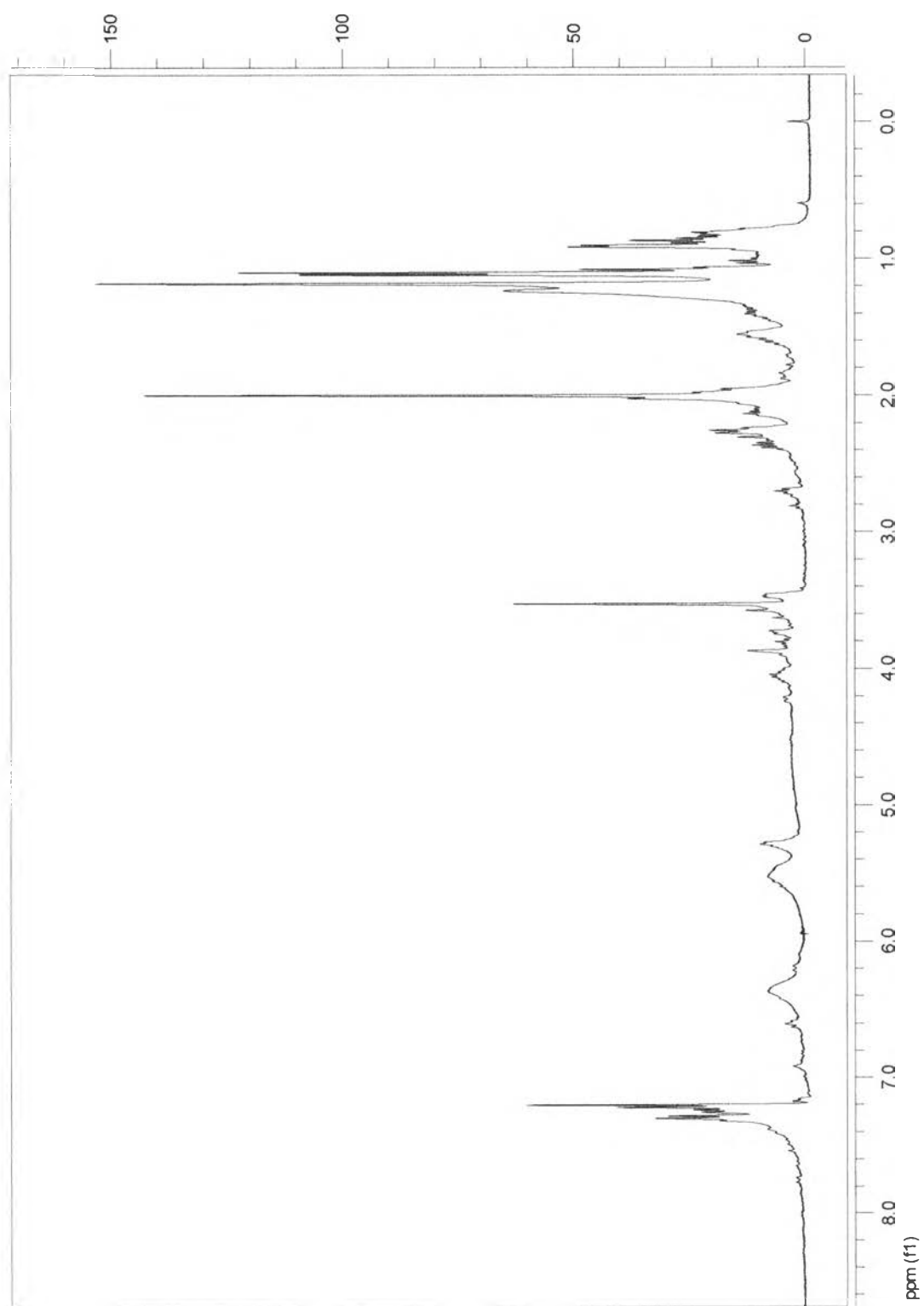
4. ส่วนย่อย P4



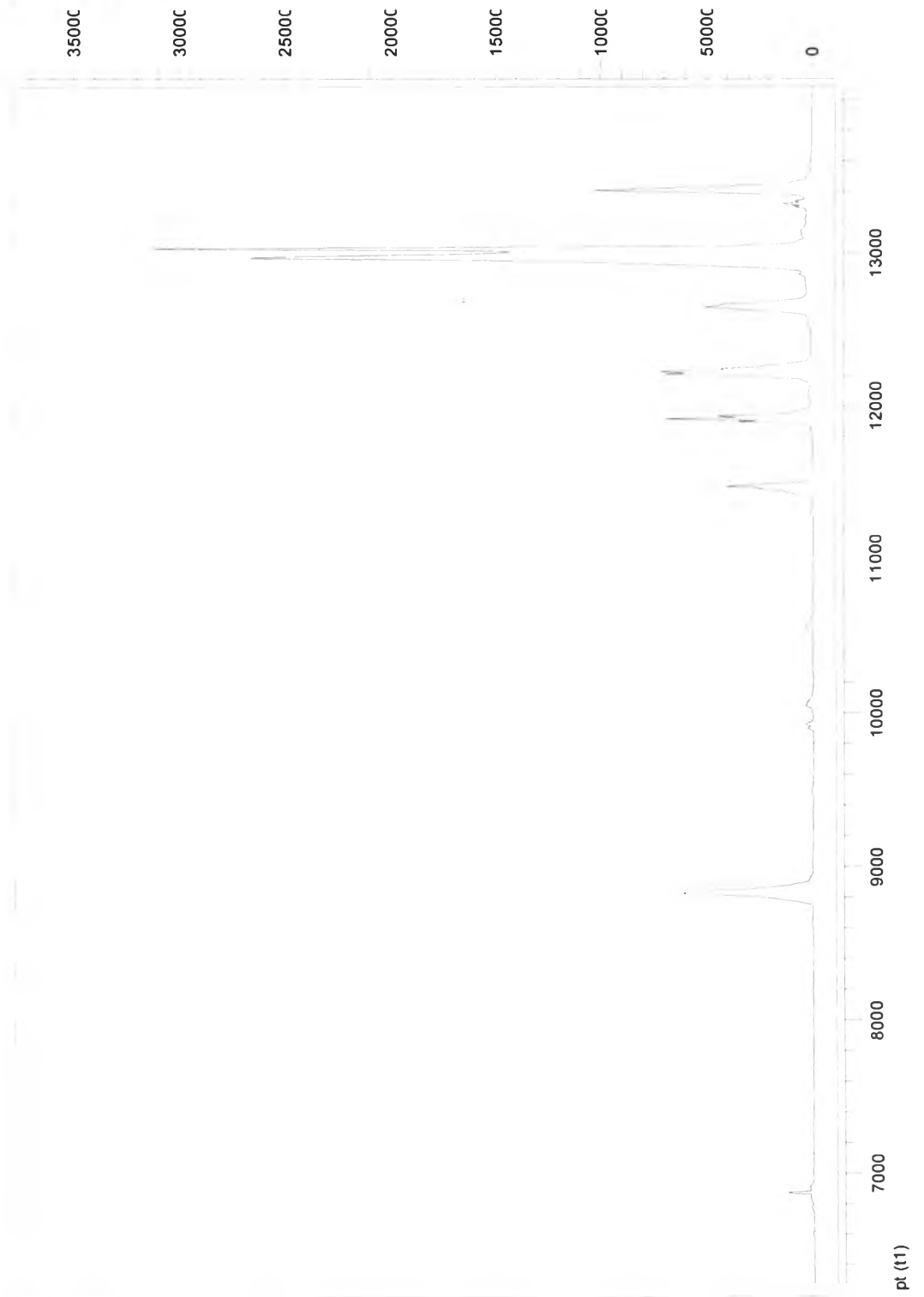
5. ส่วนย่อย P5



6. ส่วนย่อย P6



7. Crude hexane extract of Streptomyces sp. D230704



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนันทวรรณ สีนปราณี เกิดเมื่อวันที่ 18 กันยายน พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดเพชรบุรี สำเร็จ การศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ปีการศึกษา 2551 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552

การเสนอผลงานวิจัย

การนำเสนอผลงานวิจัย (poster presentation) ในงาน The 1st Asean Plus Three Graduate Research Congress ในระหว่างวันที่ 1-2 มีนาคม ปี พ.ศ. 2555 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่จังหวัด เชียงใหม่ ประเทศไทย ในหัวข้อเรื่อง Nitric oxide production suppressants for anti-inflammation from *Streptomyces* spp.

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

Warin Ravangpai, Damrong Sommit, Thapong Teerawatananond, Nuntawan Sinpranee, Tanapat Palaga, Somchai Pengpreecha, Nongnuj Muangsinsin, Khanitha Pudhom (2011). Limonoids from seeds of Thai *Xylocarpus moluccensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21,4484-4489

