รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

สุรินทร์ ปิยะโชคคณานุกูล. 2539. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า187-199.

ภาษาอังกฤษ

Akaracharanya, A., Choi, Y.E., Kusano, T., Shinmyo, A., and Sano, H. 2001. Efficient plant regeneration of *Ipomoea aquatica* by direct shoot formation from cotyledon segments. Plant Biotechnol. 18(1): 77-79.

Babic, V., Datla, R.S., Scoles, G.J., and Keller, W.A. 1998. Development of an efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for *Brassica carinata*. Plant Cell Rep. 17: 183-188.

Bevan, M.W., and Flavell, R.B. 1983. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. Nature. 304: 184-187.

Chabaud, M., Passiator, J.E., and Buchanan-Wollaston, V. 1998. Parameters affecting the frequency of kanamycin resistant alfalfa obtained by *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. Plant Cell Rep. 7: 512-516.

Edwards, K., Johnstone, C., and Thompson, C. 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucl. Acids Res. 19(6): 1349.

Frukawa, K., and Fujita, M. 1993. Advanced treatment and food production by hydroponic type wastewater treatment plant. Wat. Sci. Tech. 28: 219-228.

Gallagher, S. R. 1992. The GUS reporter system as a tool to study plant gene expression. GUS Protocols: using the GUS gene as a reporter of gene expression. pp: 23-39. London: Academic Press.

Gamborg, O.L., and Phillips, G.C. 1995. *Agrobacterium*-mediated transformation. Plant cell, tissue and organ culture. pp: 181-195. Germany: Springer-Verlay.

Godwin, I., Todd, G., Ford-Lloyd, B., and Newbury, H.J. 1991. The effects of acetosyringone and pH on *Agrobacterium*-mediated transformation vary according to plant species. Plant Cell Rep. 9: 671-675.

Hatanaka, T., Choi, Y.E., Kusano, T., and Sano, H. 1999. Transgenic plants of coffee *Coffea canephora* from embryogenic callus via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. Plant Cell Rep. 19: 106-110.

Herrera-Estrella, L., Depicker, A., Montagu, M.V., and Schell, J. 1983. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. Nature.303: 209-213.

Hiei, Y., Ohta, S., Lomari, K., and Kumashino, T. 1994. Efficiency transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated *Agrobacterium* and sequence analysis of boundaries of T-DNA. Plant J. 6: 271-282.

Hood, E.E., Helmer, G.I., Fraley, R.T., and Chilton, M. 1986. The hypervirulence of *Agrobacterium tumefaciens* A281 is encoded in a region of pTiBo542 outside of T-DNA. J. Bacteriol. 6: 1291-1301.

Hoshino, Y., Zhu, Y-M., Nakano, M., Takahashi, E., and Mii, M. 1998. Production of transgenic grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Koshusanjaku) plants by co-cultivation of embryogenic calli with *Agrobacterium tumefaciens* and selecting secondary embryos. Plant Biotechnol. 15(1): 29-33.

James, D.J., Uratsu, S., Cheng, J., Negri, P., and Dandekar, A.M. 1993. Acetosyringone and osmoprotectants like betaine or proline synergistically enhance *Agrobacterium*-mediated transformation of apple. Plant Cell Rep. 12: 559-563.

Jefferson, R. A., Kavanagh, T. A., and Beven, M. W. 1987 . GUS fusions:β-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. EMBO J. 6 (13) : 3901-3907.

Kimura, T., Takeda, S., Kyozuka, J., Asahi, T., Shimato, K., and Kamura, K. 1993. The presequence of a precursor to the δ-subunit of sweet potato mitochondrial F_1ATPase is not sufficient for the transport of β-glucuronidase (GUS) into mitochondrial tobacco, rice and yeast cells. Plant Cell Physio. 34: 345-355.

Kingsman, S.M., and Kingsman, A.J. 1988. Genetic engineering. An introduction to gene analysis and exploitation in eukaryotes. Blackwell scientific publication, Oxford.

Mori, K., Igehara, H., Yoshida, K., Shinmyo, A., and Fujita, M., 1999. Plant regeneration from septum segment of a water plant Pak-bung (*Ipomoea aquatica*). Japanese. J. Wat. Treat. Biol. 35(1): 1-7.

Murashige, T., and Shoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. Physiology Plant. 15: 473.

Otani, M., Mii, M., Handa, T., Kamada, H., and Shimada, T. 1993. Transformation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants by *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Sci. 94: 151-159.

Otani, M., Shimada, T., Kamada, H., Teruya, H., and Mii, M. 1996. Fertile transgenic plants of *Ipomoea trichocarpa* Ell. Induced by different strain of *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Sci. 116: 169-175.

Otani, M., Shimada, T., Kimura, T., and Saito, A. 1998. Transgenic plant production from embryogenic callus of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) using *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Biotechnol. 15(1): 11-16.

Ow, D.W., Wood, K.V., DeLuca, M., De Wet, J.R., Helinski, D.R., and Howell, S.H. 1986. Transient and stable expression of the firefly luciferase gene in plant cell and transgenic plants. Science. 234: 856-859.

Polowick, P.L., Quandt, J., and Mahon, J.D. 2000. The ability of pea transformation technology to transfer genes into peas adapted to western Canadian conditions. Plant Sci. 153: 161-170.

Rashid, H., Yokoi, S., Toriyama, Y., and Hinata, K. 1996. Transgenic plant production mediated by *Agrobacterium* in *Indica* rice. Plant Cell Rep. 15: 727-730.

Raven, P.T., Evert, R.F., and Eichhorn, S.E.1992. Biological of plant. 5th Ed.,New York: Worth Publisher,Inc. pp: 565-572.

Töpfer, R. Pröls, M., Schell, J., and Steinbiß, H-H. 1998. Transient gene expression in tobacco protoplasts: comparison of the reporter gene system for CAT, NPTII, and GUS. Plant Cell Rep. 7: 225-228.

Walden, R., Reiss, B., Koncz, C., and Schell, J. 1997. The impact of Ti-plasmid-derived gene vectors on the study of the mechanism of action of phytohormones. Annu. Rev. Phytopathol. 35: 45-66.

Watson, J.D., Tooze, J., and Kurtz, D.T.1975. Recombinant DNA: A short course. New York: W.H.Freeman and company. pp: 164-173.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ YEP

แบคโต-เพพโทน	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
วุ้นผง (สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง)	15	กรัม

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ธาตุอาหารหลัก ;

แอมโมเนียมไนเตรท	0.8250	กรัม
โปแทสเซียมไนเตรท	0.9500	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตระไฮเดรท	0.1850	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเรท	0.2200	กรัม
โปแทสเซียมฟอสเฟส	0.0850	กรัม
ไอออน II ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท	0.0139	กรัม

ธาตุอาหารรอง ;

โซเดียมอีดีทีเอ	18.6500	มิลลิกรัม
แมงกานีสซัลเฟตเพนตะไฮเดรท	11.1500	มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท	4.3000	มิลลิกรัม
โซเดียมโมลิบเดท	0.1250	มิลลิกรัม
กรดบอริก	3.1000	มิลลิกรัม
โปแทสเซียมไอโอไดด์	0.4150	มิลลิกรัม
โคบอลท์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรท	0.0125	มิลลิกรัม
คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรท	0.0125	มิลลิกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

องค์ประกอบวิตามิน ;

อินโนซิทอล	100.0	มิลลิกรัม
ไกลซีน	2.0	มิลลิกรัม
ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์	0.5	มิลลิกรัม
กรดนิโคตินิก	0.5	มิลลิกรัม
ไธอะมิลไฮโรคลอไรด์	0.4	มิลลิกรัม
น้ำตาลซูโครส	30.0	กรัม
วุ้นผง (ไฟตาเจล : Sigma., USA.)	3.5	กรัม

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 5.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหาร MMS (Modified Murashige and Skoog, 1962)

ธาตุอาหารหลัก ;

แอมโมเนียมไนเตรท	0.8250	กรัม
โปแทสเซียมไนเตรท	0.9500	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท	0.1850	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเรท	0.2200	กรัม
โปแทสเซียมฟอสเฟส	0.0850	กรัม
ไอออน II ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท	0.0139	กรัม

ธาตุอาหารรอง ;

โซเดียมอีดีทีเอ	18.6500	มิลลิกรัม
แมงกานีสซัลเฟตเพนตะไฮเดรท	11.1500	มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท	4.3000	มิลลิกรัม
โซเดียมโมลิบเดท	0.1250	มิลลิกรัม
กรดบอริก	3.1000	มิลลิกรัม
โปแทสเซียมไอโอไดด์	0.4150	มิลลิกรัม
โคบอลท์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรท	0.0125	มิลลิกรัม
คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรท	0.0125	มิลลิกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

องค์ประกอบวิตามิน ;

อินโนซิทอล	100.0	มิลลิกรัม
กรดนิโคตินิก	0.5	มิลลิกรัม
ไธอะมิลไฮโรคลอไรด์	0.4	มิลลิกรัม
กรดโฟลิก	5.0	มิลลิกรัม
น้ำตาลซูโครส	30.0	กรัม
วุ้นผง (ไฟตาเจล : Sigma., USA.)	3.5	กรัม

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 5.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

1. สารละลายทีเออีบัฟเฟอร์ (TAE buffer) (ความเข้มข้น 50 เท่า)

ทริส-เบส	202.0	กรัม
กรดอะซิติกเข้มข้น	57.1	มิลลิลิตร
สารละลายอีดีทีเอความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	100.0	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

2. สีติดตาม (tracking dye)

กลีเซอรอล	10.0	มิลลิลิตร
2-เมอแคปโตเอทานอล	5.0	มิลลิลิตร
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)	10.0	มิลลิลิตร
สารละลายทริส-คลอไรด์บัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 6.8		
เข้มข้น 0.5 โมลาร์	12.5	มิลลิลิตร
บรอมฟีนอลบลูเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)	0.1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	12.5	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. สารละลายสำหรับสกัดพลาสมิด

3.1 สารละลาย I

	ความเข้มข้นสุดท้าย	
สารละลายกลูโคส	50	มิลลิโมลาร์
สารละลายทริส-คลอไรด์บัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 8	5	มิลลิโมลาร์
สารละลายอีดีทีเอ ค่าความเป็นกรดด่าง 8	10	มิลลิโมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2 สารละลาย II

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 นอร์มอล	0.2	มิลลิลิตร
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)	1.0	มิลลิลิตร

น้ำกลั่น 8.8 มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3 สารละลาย III

สารละลายโปแทสเซียมอะซิเตทเข้มข้น 5 โมลาร์	50.0	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น	11.5	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	28.5	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. สารละลายฟีนอล-คลอโรฟอร์ม

นำฟีนอลที่ผ่านการทำให้สมดุล (equilibrate) ด้วยทริส-เบส ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 ซึ่งเติมไฮดรอกซีควิโนลีน (8-Hydroxyquinoline) ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาผสมกับคลอโรฟอร์ม และ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 25 : 24 : 1

5. สารละลายทีอีบัฟเฟอร์ (TE buffer) ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0

	ความเข้มข้นสุดท้าย	
สารละลายทริส-เบส	10	มิลลิโมลาร์
สารละลายอีดีทีเอค่าความเป็นกรดด่าง 8.0	1	มิลลิโมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งสองเข้าด้วยกัน แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จนได้ค่าความเป็นกรดด่างเป็น 8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. สารละลายไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลายไฮโกรมัยซินบี 250 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

7. สารละลายกานามัยซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลายกานามัยซิน (ในรูปเกลือซัลเฟต) 250 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 5 กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

8. สารละลายอะซิโตไซริงโอนเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลาย 3', 5'-ไดเมธอกซี -4'-ไฮดรอกซีอะซิโตฟีโนน 250 มิลลิกรัมในไดเมธิลซัลฟอกไซด์ 5 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

9. สารละลายเซฟโฟแทคซีมเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ละลายเซฟโฟแทคซีม (ในรูปเกลือโซเดียม) 250 มิลลิกรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรุพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

10. สารละลายไธเดียซูรอนเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

ละลายไธเดียซูรอน 22 มิลลิกรัมในไดเมธิลฟอร์มามีด 200 ไมโครลิตรโดยวิธีปราศจากเชื้อ ปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศเซลเซียส

11. สารละลายสำหรับสกัดดีเอ็นเอจากผักบุ้ง ; สารละลายบัฟเฟอร์เอกแทรกชัน

	ความเข้มข้นสุดท้าย	
สารละลายทริสคลอไรด์บัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 7.5	200.0	มิลลิโมลาร์
สารละลายอีดีทีเอ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0	25.0	มิลลิโมลาร์
สารละลายเอสดีเอส 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)	0.5	เปอร์เซ็นต์

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันโดยวิธีปราศจากเชื้อ

12. สารละลาย 5-โบรโม-4-คลอโร-3-อินโดลิล บีตา-กลูคูโรไนด์ (X-Gluc) เข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์

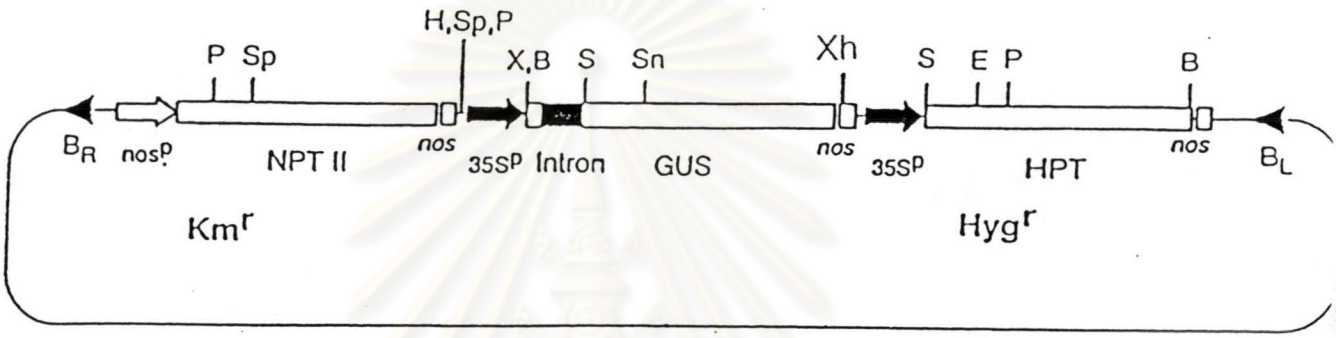
	ความเข้มข้นสุดท้าย	
สารละลายโซเดียมฟอสเฟส ปลอดเชื้อ ค่าความเป็นกรดด่าง 7.0	0.1	โมลาร์
สารละลายโปแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์ ปลอดเชื้อ	0.5	มิลลิโมลาร์
สารละลายโปแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ ปลอดเชื้อ	0.5	มิลลิโมลาร์
สารละลาย X-Gluc ในไดเมธิลฟอร์มามีด	0.001	มิลลิโมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และเตรียมทันทีก่อนนำไปใช้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

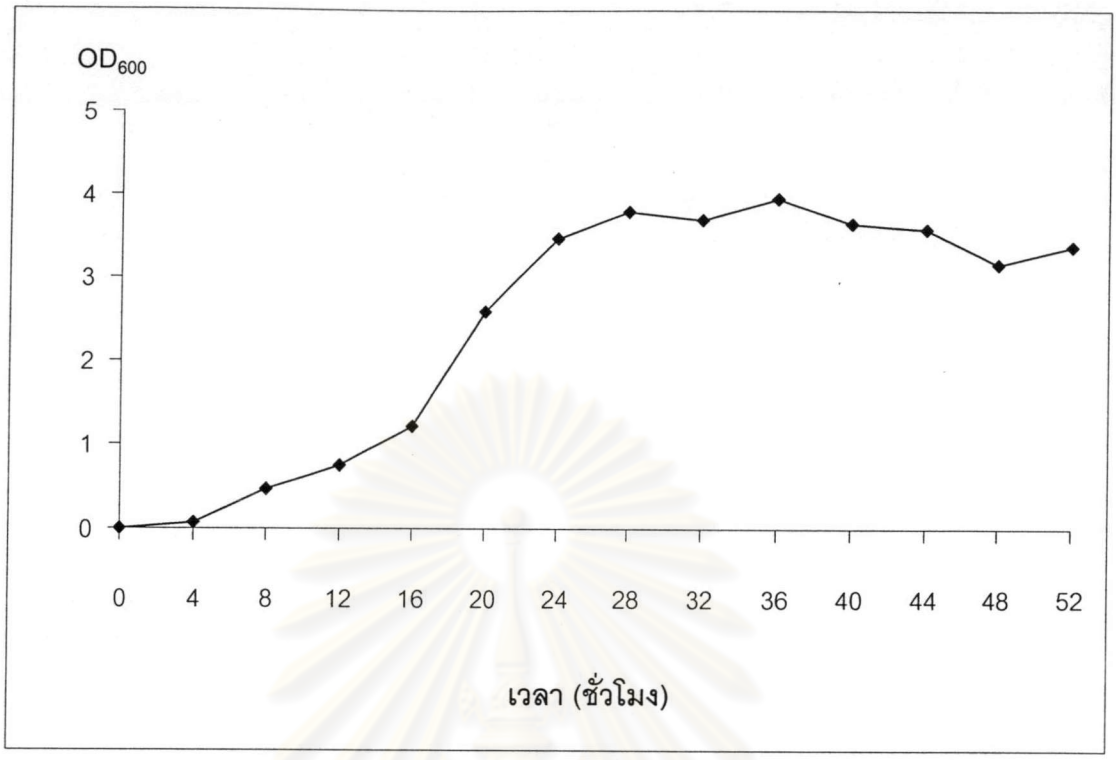


PBIH1-IG(SX)

ภาพที่ ค.1 แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิด pBIH1-IG(SX)

พลาสมิด pBIH1-IG(SX) ดัดแปลงมาจากพลาสมิด pBIH1-IG (Kimura และคณะ,1993) โดยเปลี่ยนแปลงตำแหน่งจดจำของเอนไซม์เรสทริกชันที่บริเวณปลายด้าน 3' ของยีน *gus* จาก *Sac*I เป็น *Xho*I

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ ค.2 การเจริญของ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ EHA101 ที่มีพลาสมิดพาหะ pBIH1-IG(SX) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตร YEP ที่เติมสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซิน และสารปฏิชีวนะกานามัยซิน ความเข้มข้นสุดท้ายชนิดละ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โปรโมเตอร์ชนิด CaMV 35s มีลำดับเบสที่ตำแหน่ง 1-834 เบส

```
   1 agattagcct tttcaatttc agaaagaatg ctaacccaca gatggttaga gaggcttacg
  61 cagcaggtct catcaagacg atctacccga gcaataatct ccaggaaatc aaataccttc
 121 ccaagaaggt taaagatgca gtcaaaagat tcaggactaa ctgcatcaag aacacagaga
 181 aagatatatt tctcaagatc agaagtacta tccagtatgg acgattcaag gcttgcttca
 241 caaaccaagg caagtaatag agattggagt ctctaaaaag gtagttccca ctgaatcaaa
 301 ggccatggag tcaaagattc aaatagagga cctaacagaa ctcgccgtaa agactggcga
 361 acagttcata cagagtctct tacgactcaa tgacaagaag aaaatcttcg tcaacatggt
 421 ggagcacgac acacttgtct actccaaaaa tatcaaagat acagtctcag aagaccaaag
 481 ggcaattgag acttttcaac aaagggtaat atccggaaac ctcctcggat tccattgccc
 541 agctatctgt cactttattg tgaagatagt ggaaaaggaa ggtggctcct acaaatgcca
 601 tcattgcgat aaaggaaagg ccatcgttga agatgcctct gccgacagtg gtcccaaaga
 661 tggacccccа cccacgagga gcatcgtgga aaaagaagac gttccaacca cgtcttcaaa
                                      CaMV 35s primer
 721 gcaagtggat tgatgtgata tctccactga cgtaagggat gacgcacaat cccactatcc
 781 ttcgcaagac ccttcctcta tataaggaag ttcatttcat ttggagagaa caccgggggа
 841 acatggatcc ctacagggta aatttctagt ttttctcctt cattttcttg gttaggaccc
 901 ttttctcttt tttatttttt ttgagctttg atctttcttt aaactgatct atttttttaat
 961 tgattggtta tggtgtaaat attacatagc tttaactgat aatctgatta ctttatttcg
1021 tgtgtctatg atgatgatga tagttagaga accgtcga
```

ยีน *gus* มีลำดับเบสที่ตำแหน่ง 1,059-1,870 เบส

```
1059          at g*ttacgtcct gtagaaaccc caacccgtga aatcaaaaaa ctcgacggcc
                                  gus primer
1111 tgtgggcatt cagtctggat cgcgaaaact gtggaattga tcagcgttgg tgggaaagcg
1171 cgttacaaga aagccgggca attgctgtgc caggcagttt taacgatcag ttcgccgatg
1231 cagatattcg taattatgcg ggcaacgtct ggtatcagcg cgaagtcttt ataccgaaag
```

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1291 gttgggcagg ccagcgtatc gtgctgcgtt tcgatgcggt cactcattac ggcaaagtgt

1351 gggtcaataa tcaggaagtg atggagcatc agggcggcta tacgccattt gaagccgatg

1411 tcacgccgta tgttattgcc gggaaaagtg tacgtatcac cgtttgtgtg aacaacgaac

1471 tgaactggca gactatcccg ccgggaatgg tgattaccga cgaaaacggc aagaaaaagc

1531 agtcttactt ccatgatttc tttaactatg ccggaatcca tcgcagcgta atgctctaca

1591 ccacgccgaa cacctgggtg gacgatatca ccgtggtgac gcatgtcgcg caagactgta

1651 accacgcgtc tgttgactgg caggtggtgg ccaatggtga tgtcagcgtt gaactgcgtg

1711 atgcggatca acaggtggtt gcaactggac aaggcactag cgggactttg caagtggtga

1771 atccgcacct ctggcaaccg ggtgaaggtt atctctatga actgtgcgtc acagccaaaa

1831 gccagacaga gtgtgatatc tacccgcttc gcgtcggcat ccggtcagtg gcagtgaagg

1891 gcgaacagtt cctgattaac cacaaaccgt tctactttac tggctttggt cgtcatgaag

1951 atgcggactt gcgtggcaaa ggattcgata acgtgctgat ggtgcacgac cacgcattaa

2011 tggactggat tggggccaac tcctaccgta cctcgcatta cccttacgct gaagagatgc

2071 tcgactgggc agatgaacat ggcatcgtgg tgattgatga aactgctgct gtcggcttta

2131 acctctcttt aggcattggt ttcgaagcgg gcaacaagcc gaaagaactg tacagcgaag

2191 aggcagtcaa cggggaaact cagcaagcgc acttacaggc gattaaagag ctgatagcgc

2251 gtgacaaaaa ccacccaagc gtggtgatgt ggagtattgc caacgaaccg gatacccgtc

2311 cgcaaggtgc acgggaatat ttcgcgccac tggcggaagc aacgcgtaaa ctcgacccga

2371 cgcgtccgat cacctgcgtc aatgtaatgt tctgcgacgc tcacaccgat accatcagcg

2431 atctctttga tgtgctgtgc ctgaaccgtt attacggatg gtatgtccaa agcggcgatt

2491 tggaaacggc agagaaggta ctggaaaaag aacttctggc ctggcaggag aaactgcatc

2551 agccgattat catcaccgaa tacggcgtgg atacgttagc cgggctgcac tcaatgtaca

2611 ccgacatgtg gagtgaagag tatcagtgtg catggctgga tatgtatcac cgcgtctttg

2671 atcgcgtcag cgccgtcgtc ggtgaacagg tatggaattt cgccgatttt gcgacctcgc

2731 aaggcatatt gcgcgttggc ggtaacaaga aagggatctt cactcgcgac cgcaaaccga

2791 agtcggcggc ttttctgctg caaaaacgct ggactggcat gaacttcggt gaaaaaccgc

2851 agcagggagg caaacaa**tga***

ภาพที่ ค.3 แสดงตำแหน่งโอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพร์เมอร์ทั้ง 2 สาย บนลำดับเบสของโปรโมเตอร์ชนิด CaMV 35s และยีน *gus*

* ATG start codon หมายถึง จุดเริ่มต้นของการแปลรหัสโปรตีน

*TGA stop codon หมายถึง จุดสิ้นสุดของการแปลรหัสโปรตีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ยีน *hpt* มีลำดับเบสที่ตำแหน่ง 1-1026 เบส

```
   1  ctatttcttt gccctcggac gagtgctggg gcgtcggttt ccactatcgg cgagtacttc
  61  tacacagcca tcggtccaga cggccgcgct tctgcgggcg atttgtgtac gcccgacagt
      forward primer
 121  cccggctccg gatcggacga ttgcgtcgca tcgaccctgc gcccaagctg catcatcgaa
 181  attgccgtca accaagctct gatagagttg gtcaagacca atgcggagca tatacgcccg
 241  gagtcgtggc gatcctgcaa gctccggatg cctccgctcg aagtagcgcg tctgctgctc
 301  catacaagcc aaccacggcc tccagaagaa gatgttggcg acctcgtatt gggaatcccc
 361  gaacatcgcc tcgctccagt caatgaccgc tgttatgcgg ccattgtccg tcaggacatt
 421  gttggagccg aaatccgcgt gcacgaggtg ccggacttcg gggcagtcct cggcccaaag
 481  catcagctca tcgagagcct gcgcgacgga cgcactgacg gtgtcgtcca tcacagtttg
 541  ccagtgatac acatggggat cagcaatcgc gcatatgaaa tcacgccatg tagtgtattg
 601  accgattcct tgcggtccga atgggccgaa cccgctcgtc tggctaagat cggccgcagc
 661  gatcgcatcc atagcctccg cgaccggttg tagaacagcg ggcagttcgg tttcaggcag
 721  gtcttgcaac gtgacaccct gtgcacggcg ggagatgcaa taggtcaggc tctcgctaaa
                                       reverse primer
 781  ctccccaatg tcaagcactt ccggaatcgg gagcgcggcc gatgcaaagt gccgataaac
 841  ataacgatct ttgtagaaac catcggcgca gctatttacc cgcaggacat atccacgccc
 901  tcctacatcg aagctgaaag cacgagattc ttcgccctcc gagagctgca tcaggtcgga
 961  gacgctgtcg aacttttcga tcagaaactt ctcgacagac gtcgcggtga gttcaggctt
1021  tttcat
```

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ค.4 แสดงตำแหน่งโอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพร์เมอร์ทั้ง 2 สาย บนลำดับเบสของยีน *hpt*

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกิตติมา คำหว่าน เกิดวันที่ 21 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2520 จังหวัดอุดรธานี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2541 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท หลักสูตรจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ในปีการศึกษา 2542

ผลงานทางวิชาการที่เข้าร่วมประชุม :

กิตติมา คำหว่าน และ อัญชริดา อัครจรัลญา. 2545. ภาวะเหมาะสมในการสร้างผักบุ้ง *Ipomoea aquatica* ดัดแปลงพันธุ์ โดยวิธีการใช้ *Agrobacterium tumefaciens*. การเสนอผลงานแบบบรรยายในการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 10. 20-22 พฤศจิกายน , คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย