รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กณิกนันต์ คชเดช. 2543. ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ Polyphosphate: AMP Phosphotransferase กับประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสเฟตของระบบบำบัด. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

คมนาคม, กระทรวง. เจ้าท่า, กรม. กองวิชาการ. กลุ่มงานสิ่งแวดล้อม. 2543. รายงานผลการศึกษาตรวจสอบคุณภาพน้ำในแม่น้ำเจ้าพระยา ท่าจีน แม่กลอง ป่าสัก บางปะกง ประแสร์ ระยอง ลำน้ำลำตะคอง มูล ชี นครนายก จันทบุรี พังคดและตราด ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงธันวาคม 2543. กรุงเทพฯ: ฝ่ายสิ่งแวดล้อม กองวิชาการ กรมเจ้าท่า กระทรวงคมนาคม.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2538. คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิโรจน์ ประเทืองสวัสดิ์. 2541. ประชากรและประสิทธิภาพของ *Acinetobacter* sp. ในการกำจัดฟอสเฟตในระบบบำบัดน้ำเสียชนิดทนเค็ม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วัชรี และ มนตรี อัตถทิพพหลคุณ. 2536. ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้ประโยชน์ PCR technology. กรุงเทพมหานคร: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ภาษาอังกฤษ

Auling, G., Pilz, F., Busse, H. J., Karrasch, S., Streichan, M., and Schon, G. 1991. Analysis of the polyphosphate-accumulating microflora in phosphorus-eliminating, anaerobic-aerobic activated sludge systems by using diaminopropane as a biomarker for rapid estimation of *Acinetobacter* spp. Appl. Environ. Microbiol. 57: 3585-3592.

Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., and Struhl, K. 1999. In: Short protocols in molecular biology. 4th ed. U.S.A: John Wiley&Sons, Inc.

Bark, K., Kämpfer, P., Sponner, A., and Dott, W. 1993. Polyphosphate-dependent enzymes in some coryneform bacteria isolated from sewage sludge. FEMS Microbiol. Lett. 107: 133-138.

Bitton, G. 1999. Wastewater Microbiology. 2nd ed. New York: Wiley-Liss.

Bond, P. L., Erhart, R., Wagner, M., Keller, J., and Blackall, L. L. 1999. Identification of some of the major groups of bacteria in efficient and nonefficient biological phosphorus removal activated sludge systems. Appl. Environ. Microbiol. 65: 4077-4084.

Bond, P. L., Hugenholtz, P., Keller, J., and Blackall, L. L. 1995. Bacterial community structures of phosphate-removing and non-phosphate-removing activated sludge from sequencing batch reactors. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1910-1916.

Bonting, C. F. C., Kortstee, G. J. J., and Zehnder, A. J. B. 1991. Properties of polyphosphate: AMP phosphotransferase of *Acinetobacter* strain 210A. J. Bacteriol. 173: 6484-6488.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annl. Biochem. 72: 248-254.

Brodisch, K. E. U., and Joyner, S. J. 1983. The role of microorganisms other than *Acinetobacter* in biological phosphorus removal in the activated sludge process. Water Sci. Technol. 15:117-125.

Cappuccino, J. G., and Sherman, N. 2000. Microbiology a laboratory manual. 6th ed. New York: Benjamin cummings.

Cech, J. S., Hartman, P., and Macek, M. 1994. Bacteria and protozoa population dynamics in biological phosphate removal systems. Wat. Sci. Tech. 29: 109-117.

Cloete, T. E., and Steyn, P. L. 1987. A combined fluorescent antibody-membrane filter technique for enumerating *Acinetobacter* in activated sludge, In: Advances in water pollution control, biological phosphate removal from wastewaters (Ramadori R., ed.), pp. 335-338, Pergamon Press, Oxford.

Comeau, Y., Hall, K. J., Hancock, R. E. W., and Oldham, W. K. 1986. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. Wat. Res. 20: 1511-1521.

Crocetti, G. R., Hugenholtz, P., Bond, P. L., Schuler, A., Keller, J., Jenkins, D., and Blackall, L. L. 2000. Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1175-1182.

Fuhs, G. W., and Chen, M. 1975. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. Microb. Ecol. 2: 119-138.

Gavigan, J-A., Marshall, L. M., and Dobson, A. D. W. 1999. Regulation of polyphosphate kinase gene expression in *Acinetobacter baumannii* 252. Microbiology. 145: 2931-2937.

Harold, F. M. 1966. Inorganic polyphosphates in biology: Structure, metabolism, and function. Bacteriol. Rev. 30: 772-794.

Harold, F. M., and Harold, R. L. 1965. Degradation of inorganic polyphosphate in mutants of *Aerobacter aerogenes*. J. Bact. 89: 1262-1270.

Hiraishi. A., Masamune. K., and Kitamura, H. 1989. Characterization of the bacterial population structure in an anaerobic-aerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles. Appl. Microbiol. 55: 897-901.

Hiraishi, A., Ueda, Y., and Ishihara, J. 1998. Quinone profiling of bacterial communities in natural and synthetic sewage activated sludge for enhanced phosphate removal. Appl. Environ. Microbiol. 64: 992-998.

Hung, T., Mak, K., and Fong, K. 1990. A specificity enhancer for polymerase chain reaction. Nucleic Acids Res. 18: 4953

Innis, M. A., Gelfand, D. H., and Sninsky, J. J. 1990. PCR protocols a guide to methods and applications. California: Academic press.

Kämpfer, P., Erhart, R., Beimfohr, C., Böhringer, J., Wagner, M., and Amann, R. 1996. Characterization of bacterial communities from activated sludge: culture-dependent numerical identification versus *in situ* identification using group- and genus-specific rRNA-targeted oligonucleotide probes. Microb. Ecol. 32: 101-121.

Kandler, O., and N. Weiss. 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. vol. 2. Baltimore/London: Williums & Wilkins.

Kato, J., Yamamoto, T., Yamada, K., and Ohtake, H. 1993. Cloning, sequence and characterization of the polyphosphate kinase-encoding gene (*ppk*) of *Klebsiella aerogenes*. Gene. 137: 237-242.

Kawaharasaki, M., Tanaka, H., Kanagawa, T., and Nakamura, K. 1999. In situ identification of polyphosphate-accumulating bacteria in activated sludge by dual staining with rRNA-targeted oligonucleotide probes and 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) at a polyphosphate-probing concentration. Wat. Res. 33: 257-265.

Keasling, J. D., Van Dien, S. J., Trelstad, P., Renninger, N., and McMahon, K. 2000. Application of polyphosphate metabolism to environmental and biotechnological problems. Biochemistry (Moscow). 65: 324-331.

Kornberg, A., Kornberg, S. R., and Simms, E. S. 1956. Metaphosphate synthesis by an enzyme from *Escherichia coli*. Biochem. Biophys. Acta. 20:215-227.

Kornberg, A., Rao, N. N., and Ault-Rich, D. 1999. Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions. Ann. Rev. Biochem. 68: 89-125.

Kositanont, C., Kaewkra-jang, A., and Paksin, T. 1997. Evaluation of novel wastewater treatment system of Sriracha. The 1st Annual International Ecological Engineering Conference. Bangkok: KMITT.

Kuo, H., McMahon, K. D., and Keasling, J. D. 2000. Retrieving novel PPK gene fragments from marine bacteria. [Online]. Available from: http://www.marbec.net/education/projects/report_kuo.pdf [2000, August]

López, N. I., Pettinari, M. J., and Méndez, B. S. 1997. Detection of reserve polymer synthesis genes in natural bacterial populations. FEMS Microbiol. Ecol. 22: 129-136.

Maszenan, A. M., Seviour, R. J., Patel, B. K. C., Schumann, P., Burghardt, J., Tokiwa, Y., and Stratton, H. M. 2000. Three isolates of novel polyphosphate-accumulating Gram-positive cocci, obtained from activated sludge, belong to a new genus, *Tetrasphaera* gen. nov., and description of two new species, *Tetrasphaera japonica* sp. Nov. and *Tetrasphaera australiensis* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 593-603.

McGrath, J. W., and Quinn, J. P. 2000. Intracellular accumulation of polyphosphate by the yeast *Candida humicola* G-1 in response to acid pH. Appl. Environ. Microbiol. 66: 4068-4073.

Merzouki, M., Bernet, N., Delgenès, J-P., Moletta, R., and Benlemlih, M. 1999. Kinetic behavior of some polyphosphate-accumulating bacteria isolates in the presence of nitrate and oxygen. Curr. Microbiol. 38: 300-308.

Mino, T. 2000. Microbial selection of polyphosphate-accumulating bacteria in activated sludge wastewater treatment processes for enhanced biological phosphate removal. Biochemistry (Moscow). 65: 341-348.

Muhammed, A. 1961. Studies on biosynthesis of polymetaphosphate by an enzyme from *Corynebacterium xerosis*. Biochim. Biophys. Acta. 54: 121-132.

Nakamura, K., Ishikawa, S., and Kawaharasaki, M. 1995. Phosphate uptake and release activity in immobilized polyphosphate-accumulating bacterium *Microlunatus phosphovorus* strain NM-1. J. Ferment. Bioeng. 80: 377-382.

Ohtake, H., Takahashi, K., Tsuzuki, Y., and Toda, K. 1985. Uptake and release of phosphate by a pure culture of *Acinetobacter calcoaceticus*. Water Res. 19: 1587-1594.

Ohtsuka, E., Matsuki, S., Ikehara, M., Takahashi, Y., and Matsubara, K. 1985. An alternative approach to deoxyoligonucleotides as hybridization probes by insertion of deoxyinosine at ambiguous codon positions. The J. Biol. Chem. 260: 2605-2608.

Rashid, M. H., Rumbaugh, K., Passador, L., Davies, D. G., Hamood, A. N., Iglewski, B. H., and Kornberg, A. 2000. Polyphosphate kinase is essential for biofilm development, quorum sensing, and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. PNAS. 97: 9636-9641.

Robinson, N. A., Goss, N. H., and Wood, H. G. 1984. Polyphosphate kinase from *Propionibacterium shermanii*: formation of an enzymatically active insoluble complex with basic proteins and characterization of synthesized polyphosphate. Biochem. Int. 8: 757-769.

Sambrook, J., and Russell, D. W. 2001. Preparation and analysis of Eukaryotic genomic DNA. In Molecular cloning a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold spring harbor laboratory press.

Shapiro, J. 1967. Induced rapid release and uptake of phosphate by microorganisms. Science. 155: 1269-1271.

Sidat, M., Bux, F., and Kasan, H. C. 1999. Polyphosphate accumulation by bacteria isolated from activated sludge. Water SA. 25: 175-179.

Soung-Hee, H., Soo-Ki, K., and Ki-Sung, L. 1999. PCR cloning of polyphosphate kinase gene, *ppk*, from several microorganisms. The 39th Annual Meeting of the Microbiological Society of Korea. Korea.

Streichan, M., Golecki, J. R., and Schon, G. 1990. Polyphosphate-accumulating bacteria from sewage plants with different processes for biological phosphorus removal. FEMS Microbiol. Ecol. 73: 113-124.

Tinsley, C. R., Manjula, B. N., and Gotschlich, E. C. 1993. Purification and characterization of polyphosphate kinase from *Neisseria meningitidis*. Infect. Immun. 61: 3703-3710.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J. 1994. ClustalW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22: 4673-4680.

Van Groenstijin, J. W., Bentvelsen, M. M. A., Deinema, M. H., and Zehnder, A. J. B. 1989. Polyphosphate-degrading enzymes in *Acinetobacter* spp. And activated sludge. Appl. Environ. Microbiol. 55: 219-223.

Van Loosdrecht, M. C. M., Brdjanovic, D., Heijnen, J. J., and Hooijmans, C. M. 1997. Biological phosphate removal process. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48: 289-296.

Wallner, G., Erhart, R., and Amann, R. 1995. Flow cytometry analysis of activated sludge with rRNA-targeted probes. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1859-1866.

Wagner, M., Amann, R., Lemmer, H., and Schleifer, K. H. 1993. Probing activated sludge with oligonucleotides specific for *Proteobacteria*: Inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure. Appl. Environ. Microbiol. 59: 1520-1525.

Wagner, M., Erhart, R., Manz, W., Amann, R., Lemmer, H., Wedi, D., and Schleifer, K. H. 1994. Development of an rRNA-targeted oligonucletide probe specific for the genus *Acinetobacter* and its application for *in situ* monitoring in activated sludge. Appl. Environ. Microbiol. 60: 792-800.

Wentzel, M. C., Lotter, L. H., Ekama, G. A., Loewenthal, R. E., and Marais, G. V. R. 1991. Evaluation of Biochemical models for biological excess phosphorus removal. Wat. Sci. Tech. 23: 567-576.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสียชนิดแข็ง (Waste water agar medium)

น้ำเสีย	1000 มิลลิลิตร
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนออโธฟอสเฟต	0.1 กรัม
วุ้นผง	15.0 กรัม

ปั่นเหวี่ยงน้ำเสียเพื่อกำจัดตะกอน แล้วจึงนำน้ำเสียปริมาตร 500 มิลลิลิตร มากรองผ่านแผ่นกรองไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose membrane filter) ที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตรเพื่อให้ปราศจากเชื้อ น้ำเสียที่เหลืออีกส่วนหนึ่งปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำมาละลายกับโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตและวุ้นผงจากนั้นจึงทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน แล้วจึงผสมน้ำเสียทั้งสองส่วนเข้าด้วยกันในสภาวะปราศจากเชื้อ

2. อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสียสังเคราะห์ชนิดแข็ง (Synthetic waste water agar medium)

โซเดียมอะซิเตต ($NaCH_3CO_2.3H_2O$)	2.04 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.6 กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.32 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.19 กรัม
โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.09 กรัม
เอทธิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติกแอซิด (EDTA)	0.1 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.07 กรัม
สารละลายแร่ธาตุต่างๆ	
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$)	1.5 กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	0.15 กรัม
โคบอลต์คลอไรด์ ($CoCl_2.6H_2O$)	0.15 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H_2O$)	0.12 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)	0.12 กรัม
โซเดียมโมลิบเดต ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	0.06 กรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)	0.03 กรัม
โปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI)	0.03 กรัม

วุ้นผง 15.0 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน สำหรับสารละลายแร่ธาตุต่างๆทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านแผ่นกรองไนโตรเซลลูโลสที่มีขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วจึงเติมลงในอาหารปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสียสังเคราะห์ชนิดเหลว</u> (Synthetic waste water medium)

สูตรอาหารและวิธีการฆ่าเชื้อเป็นสูตรเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสียสังเคราะห์ชนิดแข็ง แต่ไม่มีการเติมวุ้นผง

4. <u>อาหารแข็งนิวเทรียนท์</u> (Nutrient agar)

เนื้อสกัด 3.0 กรัม

แบคโตเปปโตน 5.0 กรัม

วุ้นผง 20.0 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

5. <u>อาหารทดสอบการเคลื่อนที่</u> (Motility test medium)

เนื้อสกัด 3.0 กรัม

เปปโตน 10.0 กรัม

โซเดียมคลอไรด์ 5.0 กรัม

ไตรฟีนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ 0.05 กรัม

(2, 3, 5-Triphenyltetrazolium chloride)

วุ้นผง 4.0 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

หลอมอาหารให้เข้ากัน แล้วเติมไตรฟีนิลเตตระโซเลียมคลอไรด์ ต้มเดือดนาน 1 นาที นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

6. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพี</u> (MR-VP medium)

โปรติโอสเปปโตน	5.0 กรัม
กลูโคส	5.0 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส และความดันมาตรฐาน เป็นเวลา 10 นาที

7. <u>อาหารเหลวฟีนอล เรด เบส</u> (Phenol red broth base)

โปรติโอสเปปโตน	10.0 กรัม
เนื้อสกัด	1.0 กรัม
ฟีนอลเรด	0.018 กรัม
น้ำตาล	1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

น้ำตาลที่ใช้ได้แก่ ดี-กลูโคส, มอลโตส, แลคโตส, ดี-ฟรุกโตส, ดี-ไซโลส, แอล-อะราบิโนส, แรฟฟิโนส และกาแลคโตส ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 6.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

8. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไธโอไกลโคเลต</u> (Thioglycolate broth)

เปปโตน	20.0 กรัม
แอล-ซีสทีน (L-Cystine)	0.25 กรัม
กลูโคส	6.0 กรัม
โซเดียมคลอไรด์	2.5 กรัม
โซเดียมไธโอไกลโคเลต	0.5 กรัม
โซเดียมซัลไฟต์	0.1 กรัม
วุ้นผง	0.7 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ผสมสารให้เข้ากัน แล้วจึงปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.2 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

9. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช</u> (Starch agar)

แป้งมันฝรั่ง	1.0 กรัม
อาหารแข็งนิวเทรียนท์ (ภาคผนวก ก หมายเลข 4)	100 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

10. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสกิม มิลค์</u> (Skim milk agar)

อาหารส่วนที่ 1

สกิมมิลค์ พาวเดอร์	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร

อาหารส่วนที่ 2

วุ้นผง	1 กรัม
น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร

อาหารส่วนที่ 1 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส อาหารส่วนที่ 2 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121^{0}ซ ที่ความดันและเวลามาตรฐาน เมื่ออุณหภูมิลดลงจนถึง 45^{0}ซ จึงผสมอาหารทั้งสองส่วนเข้าด้วยกัน

11. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเทรียนท์ เจลาติน</u> (Nutrient gelatin medium)

อาหารแข็งนิวเทรียนท์ (ภาคผนวก ก หมายเลข 4)	100 มิลลิลิตร
เจลาติน	0.4 กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

12. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวอินโดล</u> (Indole broth)

เปปโตน	10.0 กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส และความดันมาตรฐาน นาน 20 นาที

13. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวนิวเทรียนท์</u> (Nutrient broth)

เนื้อสกัด	3.0 กรัม
แบคโตเปปโตน	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

14. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนเตรต</u> (Nitrate broth)

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	1.0 กรัม

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวนิวเทรียนท์ (ภาคผนวก ก หมายเลข 13) 1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

15. <u>น้ำเสียสังเคราะห์สูตรดัดแปลงจำกัดฟอสเฟต</u> (วิโรจน์ ประเทืองสวัสดิ์, 2541)

โซเดียมคลอไรด์	5.0 กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.01 กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.1886 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.135 กรัม
เฟอริกคลอไรด์	0.006 กรัม
โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต	0.325 กรัม
โซเดียมอะซิเตท	1.4174 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5 แล้วจึงนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

ภาคผนวก ข

สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายอัลคาไลน์ ลอฟเฟลอร์ส เมทิลีนบลู (Alkaline Loeffler's Methylene Blue)

เมทิลีนบลู คลอไรด์	5.0 กรัม
เอทธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	10.0 มิลลิลิตร
โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์	
น้ำกลั่น	10.0 มิลลิลิตร

ผสมสารให้เข้ากันแล้วปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 8.0 ด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ แล้วเก็บในขวดสีชา

2. สารละลายแกรมคริสตอลไวโอเล็ต (Gram's crystal violet solution)

สารละลาย ก	
คริสตอลไวโอเล็ต	2 กรัม
เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์	20 มิลลิลิตร
สารละลาย ข	
แอมโมเนียมออกซาเลต	0.8 กรัม
น้ำกลั่น	80 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย ก และ ข ที่เตรียมไว้ให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา

3. สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	1 กรัม
โปแตสเซียมไอโอไดด์	2 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

4. สารละลายแกรมซาฟรานินโอ (Gram's safranin staining solution)

ซาฟรานิน	0.25 กรัม
เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์	10 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ละลายซาฟรานินในเอทธานอล แล้วจึงเติมน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

5. <u>สารละลายมาลาไคท์กรีน</u> (Malachite green)

มาลาไคท์กรีน	5 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

6. <u>สารละลายโคแวคส์</u>

พาราไดเมทิลอะมิโนเบนซัลดีไฮด์	5.0 กรัม
(p-Dimethylamenobnzaldehyde)	
เอมิลหรือบิวธิลแอลกอฮอล์	75 มิลลิลิตร
(Amyl or Butyl alcohol)	
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	25 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7. <u>สารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ อัลฟา แนพธิลามีน</u> (0.5% alpha-naphthylamine)

อัลฟา แนพธิลามีน	0.5 มิลลิลิตร
5 N กรดอะซิติก	100 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

8. <u>สารละลายกรดซัลฟานิลิกเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์</u> (0.8% Sulfanilic acid)

กรดซัลฟานิลิก	0.8 มิลลิลิตร
5 N กรดอะซิติก	100 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

9. <u>สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-อีดีทีเอเข้มข้น 0.05 โมลาร์</u> (0.05M Tris-EDTA buffer)

ทริสมา เบส	3.0275 กรัม
อีดีทีเอ	0.7444 กรัม
น้ำกลั่น	450 มิลลิลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.6 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

10. สารละลายบัฟเฟอร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1M Tris-HCl buffer)

ทริสมา เบส 1.211 กรัม

น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

11. สารละลาย Bradford

คูแมสซี บริลเลียนท์ บลู จี250 50 มิลลิกรัม

เอทธิลแอลกอฮอล์ 95เปอร์เซ็นต์ 25 มิลลิลิตร

กรดฟอสฟอริก 85 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

12. Lysis buffer 1

25 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส

เอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ทีอีเอสบัฟเฟอร์ pH 8.0 (TES buffer) ซึ่งประกอบด้วย

50 mM ทริสมา เบส (Trizma base)

5mM อีดีทีเอ (Ethyleneaminetetraacetic acid, EDTA)

50mM โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

13. Lysis buffer 2

0.8 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate, SDS)

โปรตีเนสเค (Proteinase K) ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ทีอีเอ็นบัฟเฟอร์ pH 7.5 (TEN buffer) ประกอบด้วย 10 mM ทริสมา เบส

10 mM โซเดียมคลอไรด์

1 mM อีดีทีเอ

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

14. สารละลายฟีนอล-คลอโรฟอร์ม-ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

เตรียมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.0 แล้วเติม 8-ไฮดรอกซีควิโนน (8-hydroxyquinoline) ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วผสม 2-เมอแคปโตเอทธานอล เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 เท่า แล้วจึงผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวดังกล่าวกับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน 25 ต่อ 24 ต่อ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขวดสีชา

15. ทริส-อะซิเตท บัฟเฟอร์ (TAE buffer) (50x)

ทริสมา เบส	242 กรัม
กรดอะซิติก	57.1 มิลลิลิตร
0.5 โมลาร์ อีดีทีเอ pH8.0	100 มิลลิลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7.2 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

16. สารละลายบัฟเฟอร์ denaturation

0.5 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์	20 กรัม
1.5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์	87.66 กรัม

เติมน้ำให้ปริมาตรครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

17. สารละลายบัฟเฟอร์ neutralization

0.5 โมลาร์ ทริสมา เบส	60.57 กรัม
3 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์	175.32 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างจนเป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วเติมน้ำให้ปริมาตรครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

18. สารละลายบัฟเฟอร์ทรานสเฟอร์ (20x SSC)

3 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์	175.32 กรัม
0.3 โมลาร์ โซเดียมซิเตรท	88.22 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างจนเป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

19. ชุดติดฉลากและติดตามตำแหน่งดีเอ็นเอ DIG high prime DNA labeling and detection starter kit I ประกอบด้วย

- DIG-High Prime
- DIG-labeled control DNA
- DNA dilution buffer
- Anti-Digoxigenin-AP conjugate
- NBT/BCIP
- Blocking solution
- DIG easy Hyb granules

20. สารละลาย 2xSSC/สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์ (2xSSC/0.1% SDS)

สารละลายบัฟเฟอร์ทรานสเฟอร์ 20xSSC	10 มิลลิลิตร
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	1 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ครบ 100 มิลลิลิตร

21. สารละลาย 0.5xSSC ที่มี สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตอยู่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (0.5xSSC/0.1% SDS)

สารละลายบัฟเฟอร์ทรานสเฟอร์ 20xSSC	2.5 มิลลิลิตร
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	1 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ครบ 100 มิลลิลิตร

22. สารละลายบัฟเฟอร์วัวชชิง

กรดมาเลอิก	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.15 โมลาร์

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์จนเป็น 7.5 และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน แล้วจึงเติม ทวีน 20 (tween 20) ลงไป 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

23. สารละลายบล๊อกกิ้ง

นำสารละลายบล๊อกกิ้งความเข้มข้น 10 เท่าจากชุดทดสอบมาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์มาเลอิก (หมายเลข 24) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

24. สารละลายบัฟเฟอร์มาเลอิก (maleic acid buffer)

กรดมาเลอิก	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.15 โมลาร์

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์จนเป็น 7.5 และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

25. สารละลายแอนตี้บอดี้

เจือจาง Anti-Digoxigenin-AP conjugate จากชุดทดสอบ ปริมาตร 2 ไมโครลิตรในสารละลายบล๊อกกิ้งปริมาตร 15 มิลลิลิตร

26. สารละลายบัฟเฟอร์ดีเท็กชัน

ทริส-ไฮโดรคลอไรด์	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.1 โมลาร์

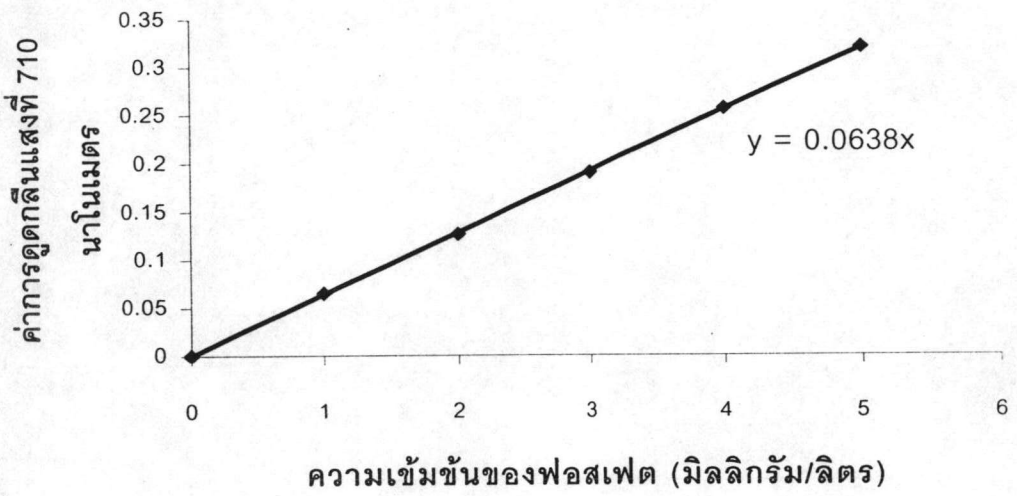
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 9.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

27. สารละลายซับสเตรตของสี

เจือจาง NBT/BCIP จากชุดทดสอบ ปริมาตร 200 ไมโครลิตรในสารละลายบัฟเฟอร์ดีเท็กชัน

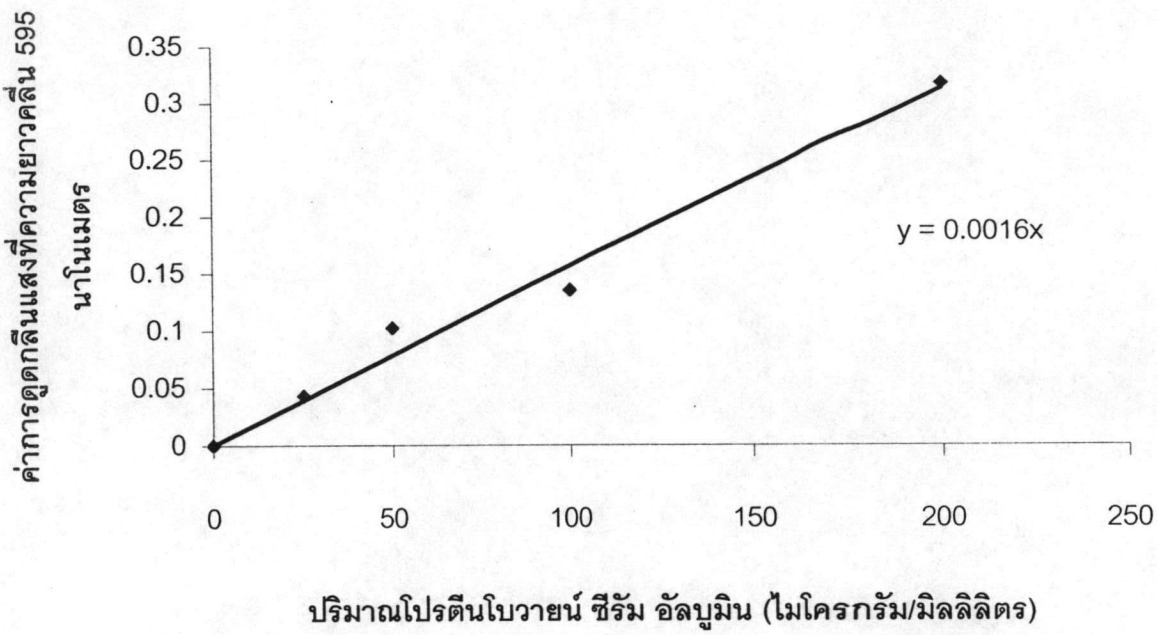
ภาคผนวก ค

แสดงกราฟมาตรฐานปริมาณฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นเป็น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาคผนวก ง.

แสดงกราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีนโบวายน์ ซีรัม อัลบูมิน ที่ความเข้มข้นเป็น 0, 25, 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาคผนวก จ.

วิธีการคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟอสเฟตไคเนสที่เกิดขึ้น โดยใช้สูตร

$$c = \frac{\Delta A \times \text{dilution factor}}{\varepsilon \times l}$$

โดยที่ c คือ ความเข้มข้น หน่วยเป็น โมลต่อลิตร

ΔA คือ ค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงในเวลา 1 นาที

dilution factor คือ ค่าความเจือจาง

ε คือ สัมประสิทธิ์ค่าการดูดกลืนแสง (absorption coefficient) ของสารผลิตภัณฑ์ ในที่นี้คือ NADPH จะมีค่าเป็น 6.317×10^2 ลิตรต่อโมลต่อมิลลิเมตร ($l\ mol^{-1}mm^{-1}$) ที่ค่าการดูดกลืนแสงเป็น 340 นาโนเมตร

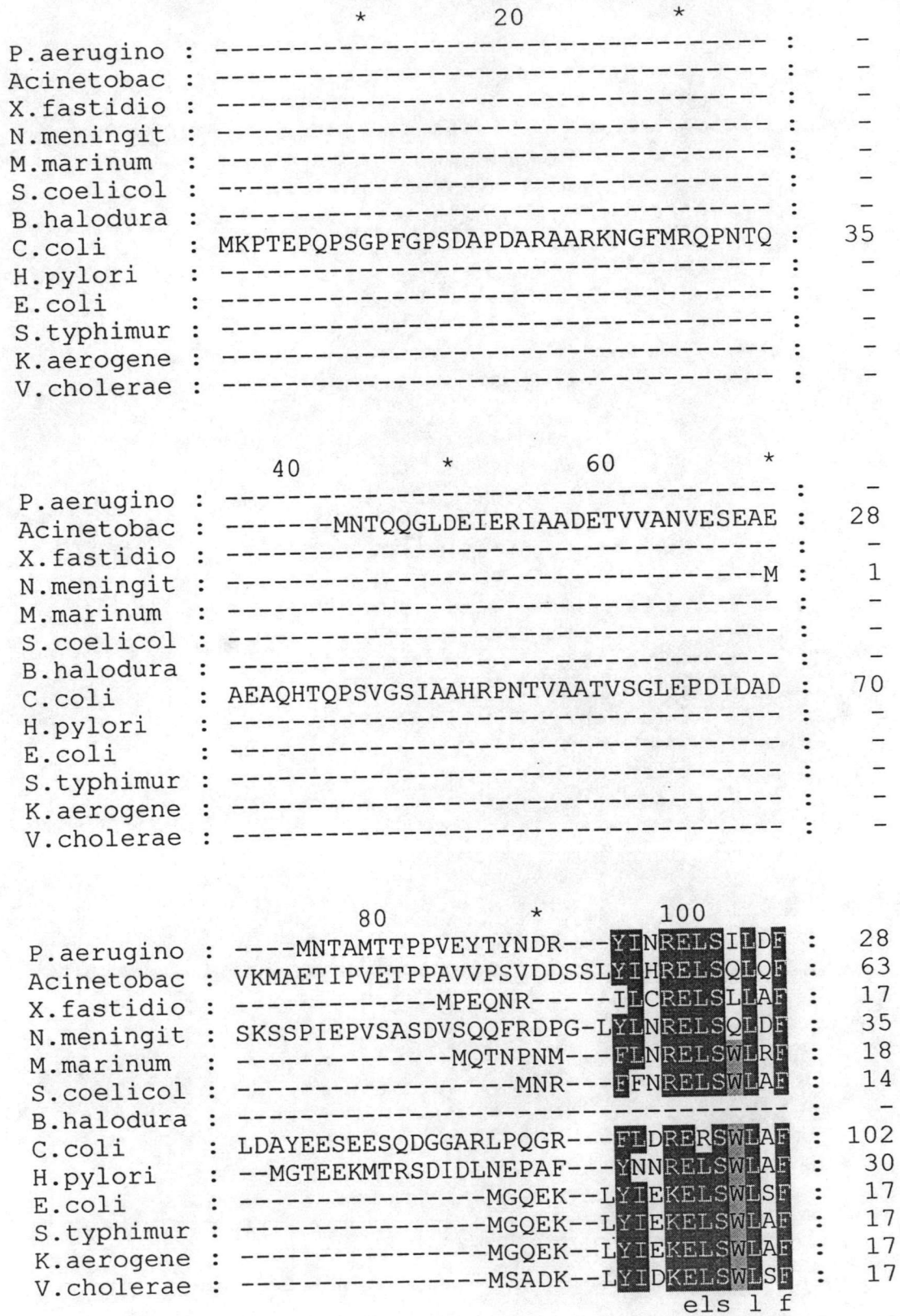
l คือ ความยาวของทางเดินแสง (path length) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

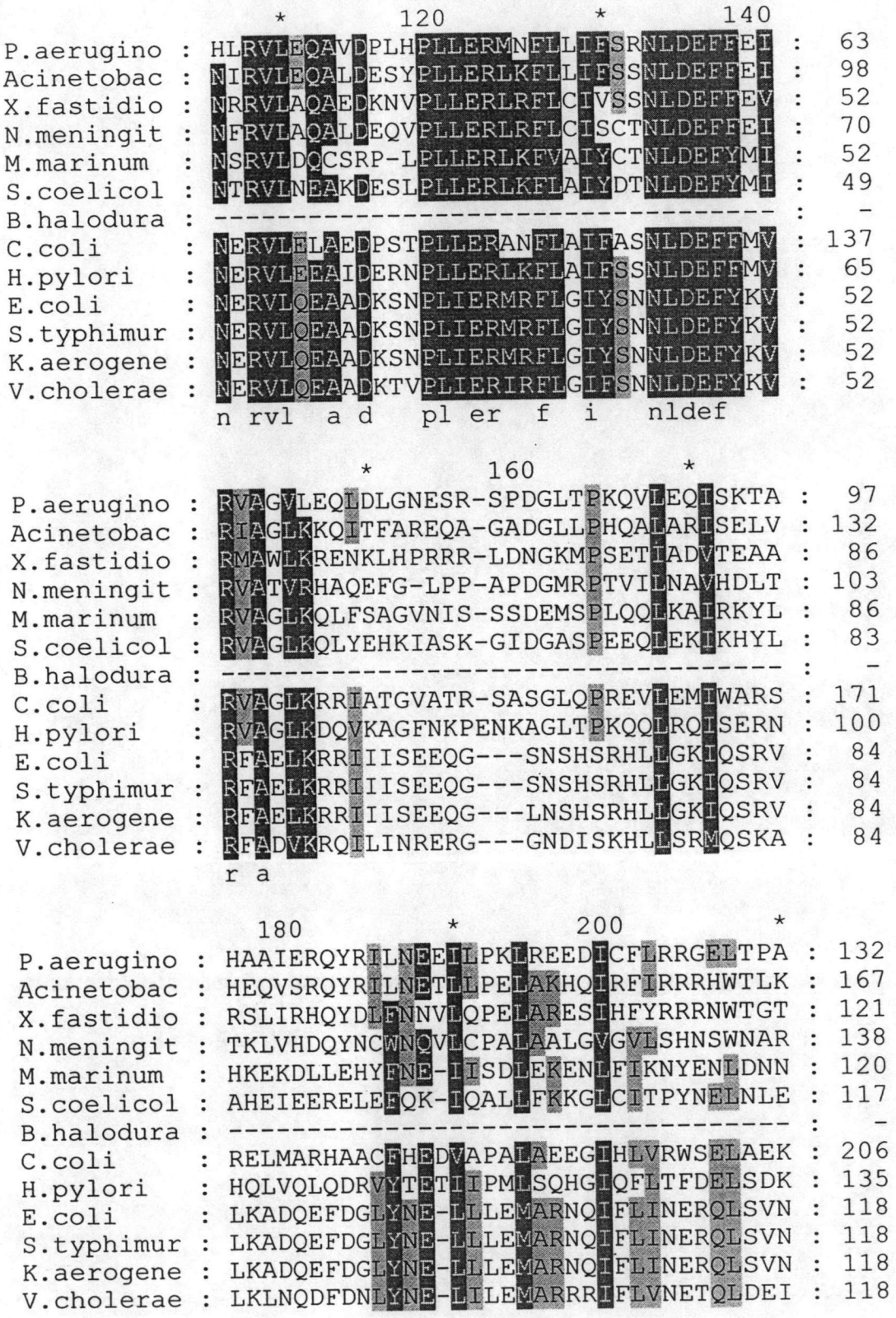
ตารางสารทดสอบที่ใช้ในการหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟอสเฟตไคเนส

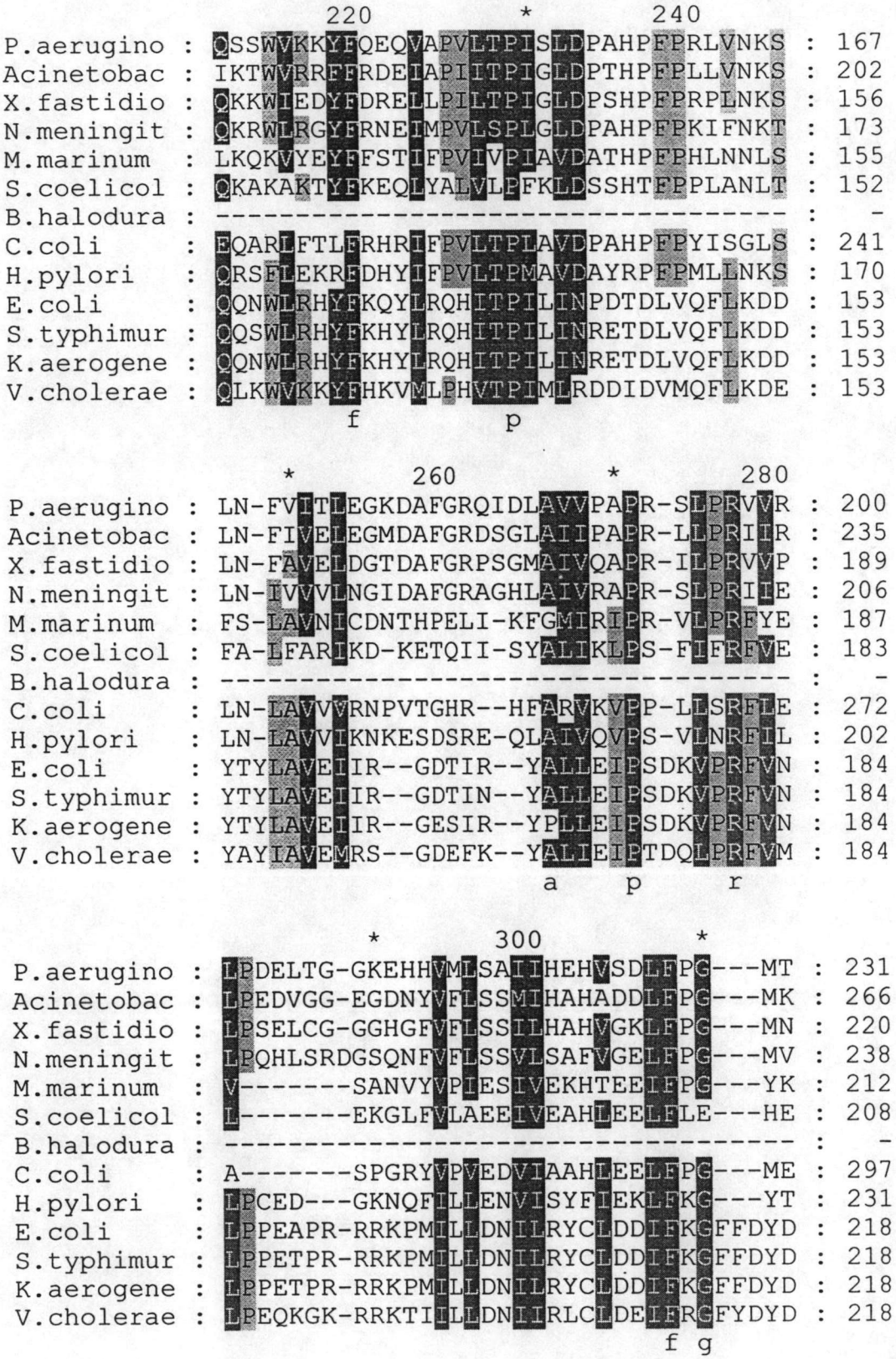
สารทดสอบ	ความเข้มข้นตั้งต้น	ปริมาตรที่ใช้ (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย
Tris-HCl	2.5M	10	0.1M
$MgCl_2$	0.2M	10	0.008M
Glucose	5M	10	0.2M
NADP	0.00295M	55	0.00065M
ADP	0.00454M	55	0.001M
Polyphosphate	3 g/l	50	0.6 g/l
Hexokinase	170 U/ml	5	3.4 U/ml
G-6-PDH	85 U/ml	5	1.7 U/ml
Crude extract	-	50	-
ปริมาตรรวม ของปฏิกิริยา		250	

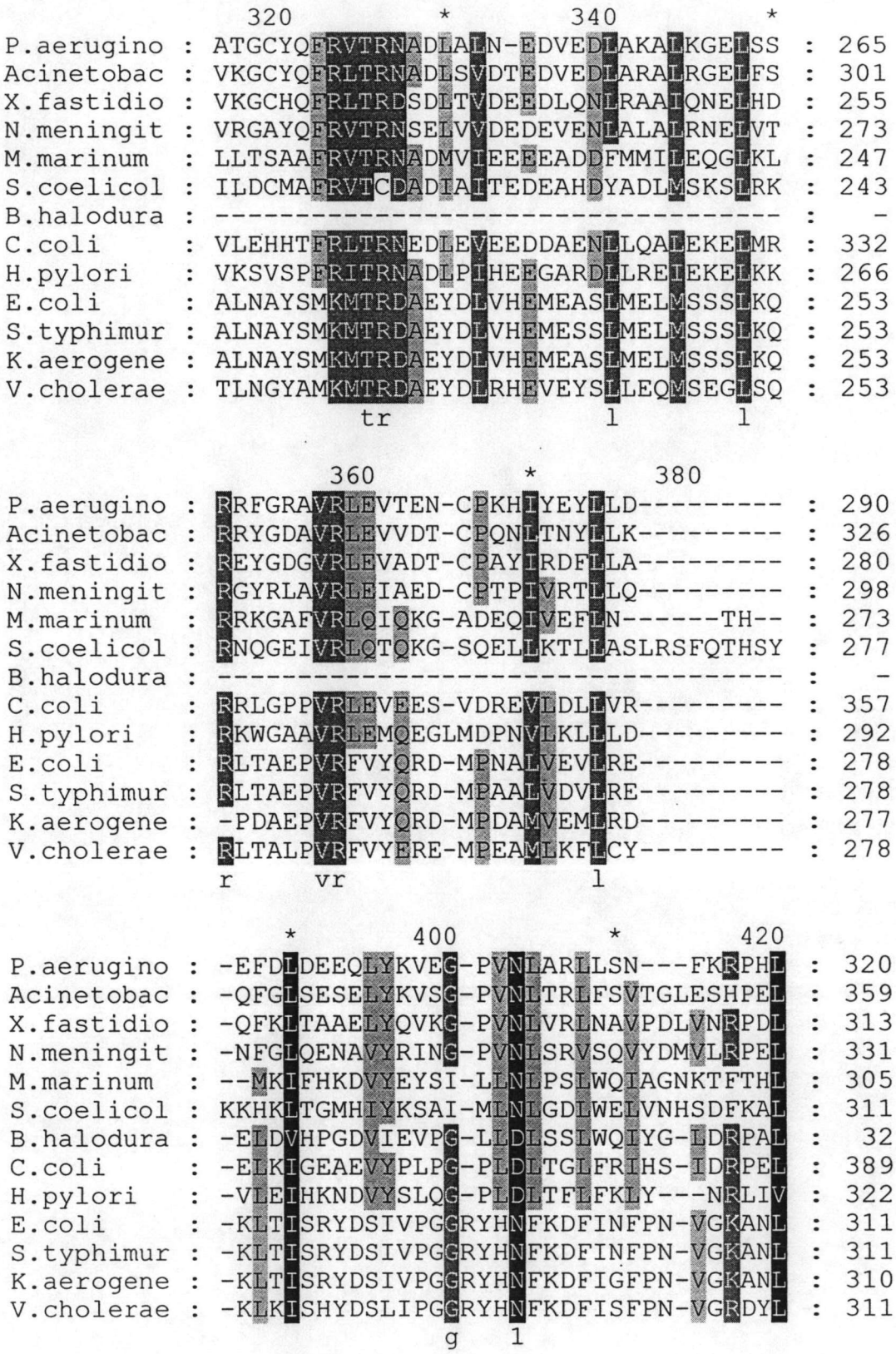
ภาคผนวก ฉ.

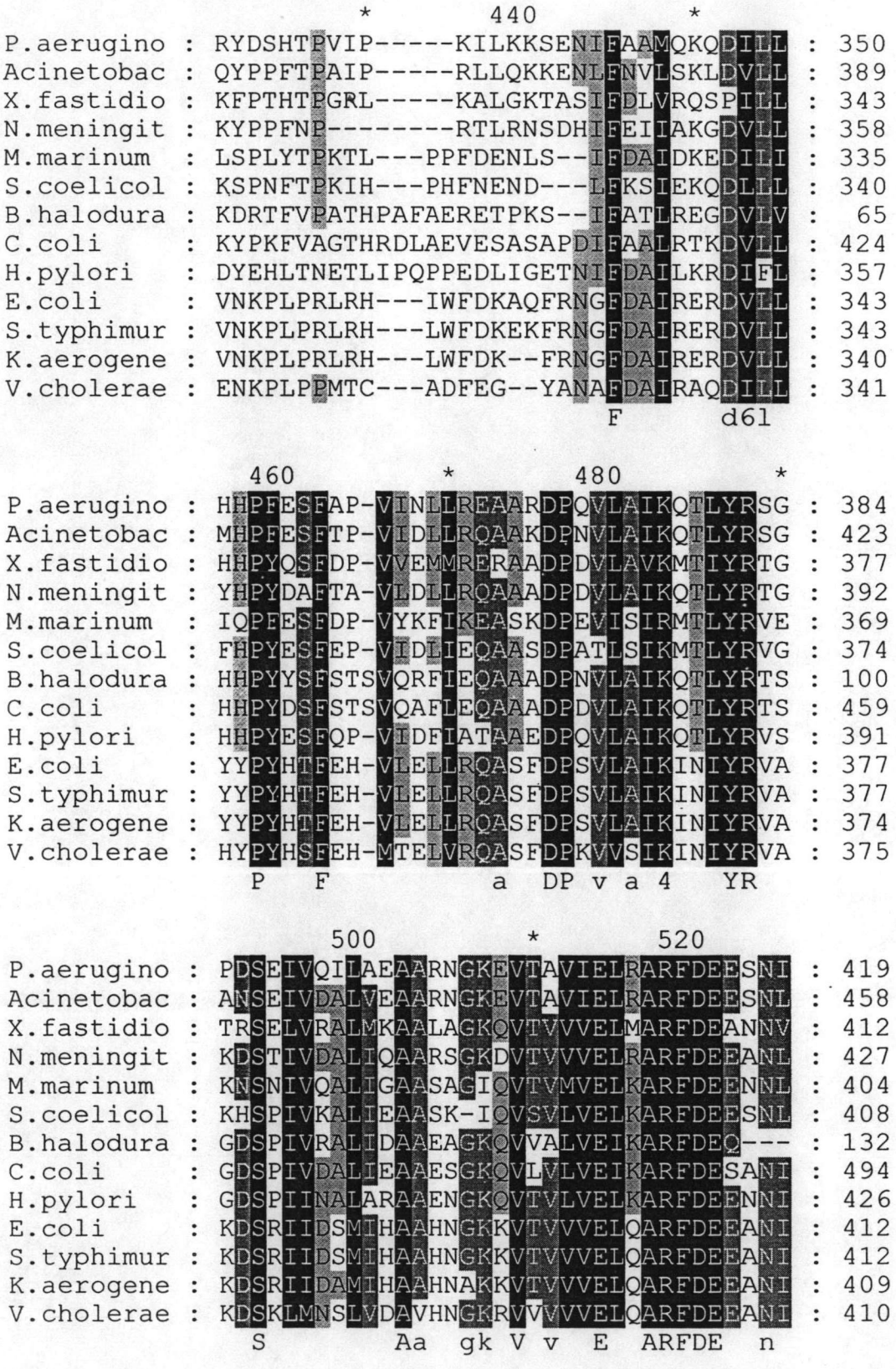
การเทียบหาลำดับกรดอะมิโนอนุรักษ์ด้วยโปรแกรม ClustalX ร่วมกับโปรแกรม GeneDoc

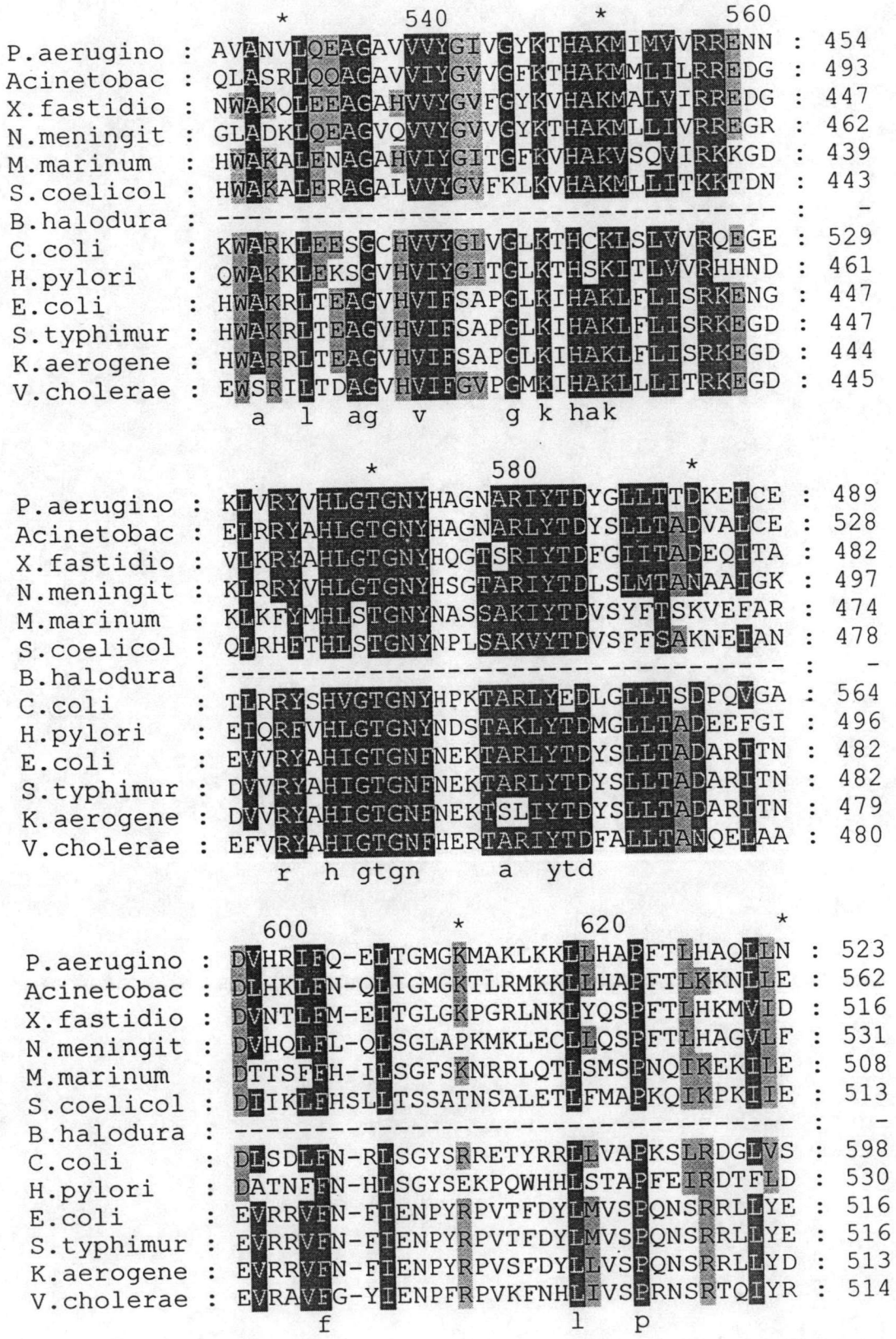


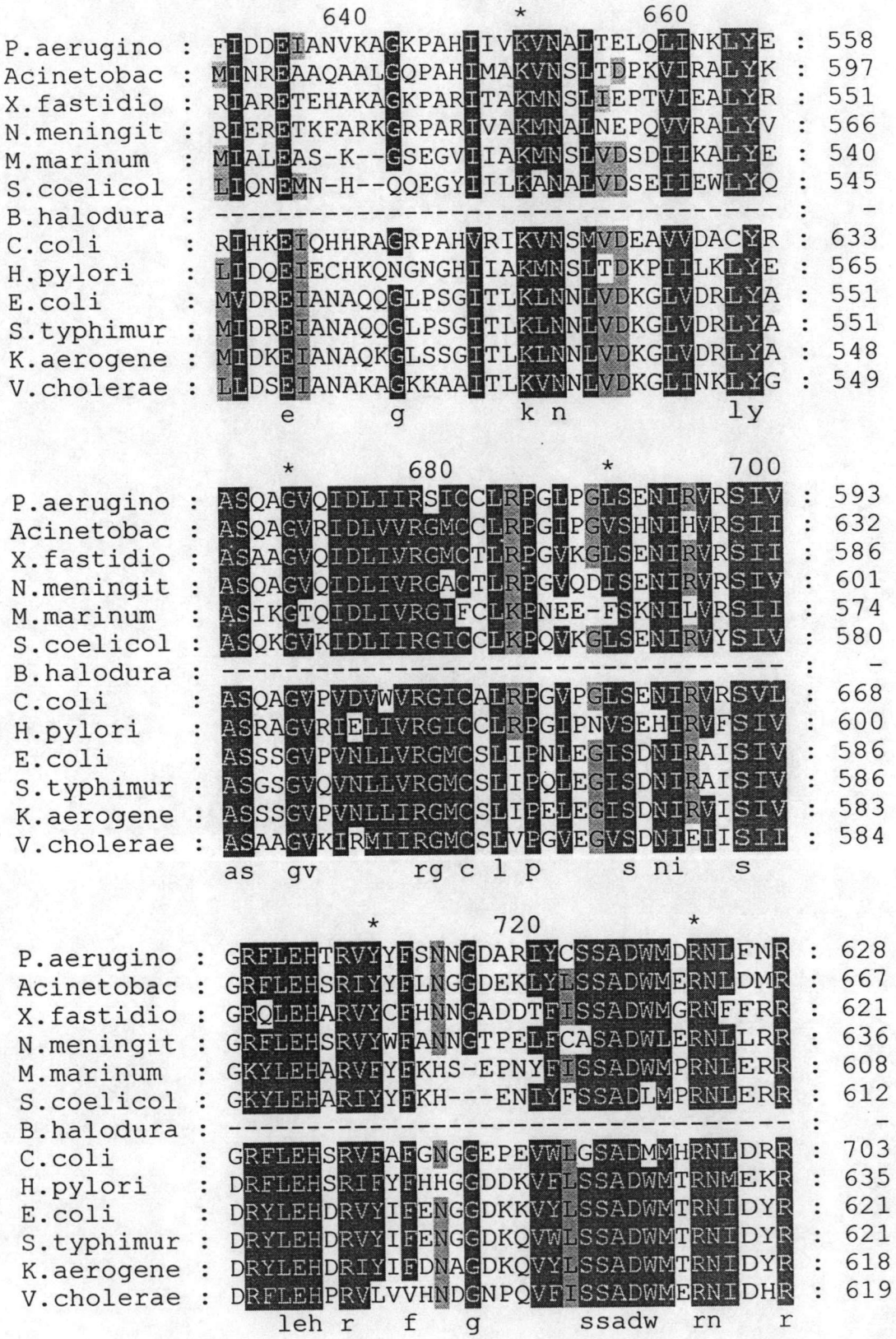

* 120 * 140
P.aerugino : HLRVLEQAVDPLHPLLERMNFLLIFSRNLDEFFEI : 63
Acinetobac : NIRVLEQALDESYPLLERLKFLLIFSSNLDEFFEI : 98
X.fastidio : NRRVLAQAEDKNVPLLERLRFLCIVSSNLDEFFEV : 52
N.meningit : NFRVLAQALDEQVPLLERLRFLCISCTNLDEFFEI : 70
M.marinum : NSRVLDQCSRP-LPLLERLKFVAIYCTNLDEFYMI : 52
S.coelicol : NTRVLNEAKDESLPLLERLKFLAIYDTNLDEFYMI : 49
B.halodura : ---------- : -
C.coli : NERVLELAEDPSTPLLERANFLAIFASNLDEFFMV : 137
H.pylori : NERVLEEAIDERNPLLERLKFLAIFSSNLDEFFMV : 65
E.coli : NERVLQEAADKSNPLIERMRFLGIYSNNLDEFYKV : 52
S.typhimur : NERVLQEAADKSNPLIERMRFLGIYSNNLDEFYKV : 52
K.aerogene : NERVLQEAADKSNPLIERMRFLGIYSNNLDEFYKV : 52
V.cholerae : NERVLQEAADKTVPLIERIRFLGIFSNNLDEFYKV : 52
n rvl a d pl er f i nldef
* 160 *
P.aerugino : RVAGVLEQLDLGNESR-SPDGLTPKQVLEQISKTA : 97
Acinetobac : RIAGLKKQITFAREQA-GADGLLPHQALARISELV : 132
X.fastidio : RMAWLKRENKLHPRRR-LDNGKMPSETIADVTEAA : 86
N.meningit : RVATVRHAQEFG-LPP-APDGMRPTVILNAVHDLT : 103
M.marinum : RVAGLKQLFSAGVNIS-SSDEMSPLQQLKAIRKYL : 86
S.coelicol : RVAGLKQLYEHKIASK-GIDGASPEEQLEKIKHYL : 83
B.halodura : ---------- : -
C.coli : RVAGLKRRIATGVATR-SASGLQPREVLEMIWARS : 171
H.pylori : RVAGLKDQVKAGFNKPENKAGLTPKQQLRQISERN : 100
E.coli : RFAELKRRIIISEEQG---SNSHSRHLLGKIQSRV : 84
S.typhimur : RFAELKRRIIISEEQG---SNSHSRHLLGKIQSRV : 84
K.aerogene : RFAELKRRIIISEEQG---LNSHSRHLLGKIQSRV : 84
V.cholerae : RFADVKRQILINRERG---GNDISKHLLSRMQSKA : 84
r a
180 * 200 *
P.aerugino : HAAIERQYRILNEEILPKLREEDICFLRRGELTPA : 132
Acinetobac : HEQVSRQYRILNETLLPELAKHQIRFIRRRHWTLK : 167
X.fastidio : RSLIRHQYDLFNNVLQPELARESIHFYRRRNWTGT : 121
N.meningit : TKLVHDQYNCWNQVLCPALAALGVGVLSHNSWNAR : 138
M.marinum : HKEKDLLEHYFNE-IISDLEKENLFIKNYENLDNN : 120
S.coelicol : AHEIEERELEFQK-IQALLFKKGLCITPYNELNLE : 117
B.halodura : ---------- : -
C.coli : RELMARHAACFHEDVAPALAEEGIHLVRWSELAEK : 206
H.pylori : HQLVQLQDRVYTETIIPMLSQHGIQFLTFDELSDK : 135
E.coli : LKADQEFDGLYNE-LLLEMARNQIFLINERQLSVN : 118
S.typhimur : LKADQEFDGLYNE-LLLEMARNQIFLINERQLSVN : 118
K.aerogene : LKADQEFDGLYNE-LLLEMARNQIFLINERQLSVN : 118
V.cholerae : LKLNQDFDNLYNE-LILEMARRRIFLVNETQLDEI : 118

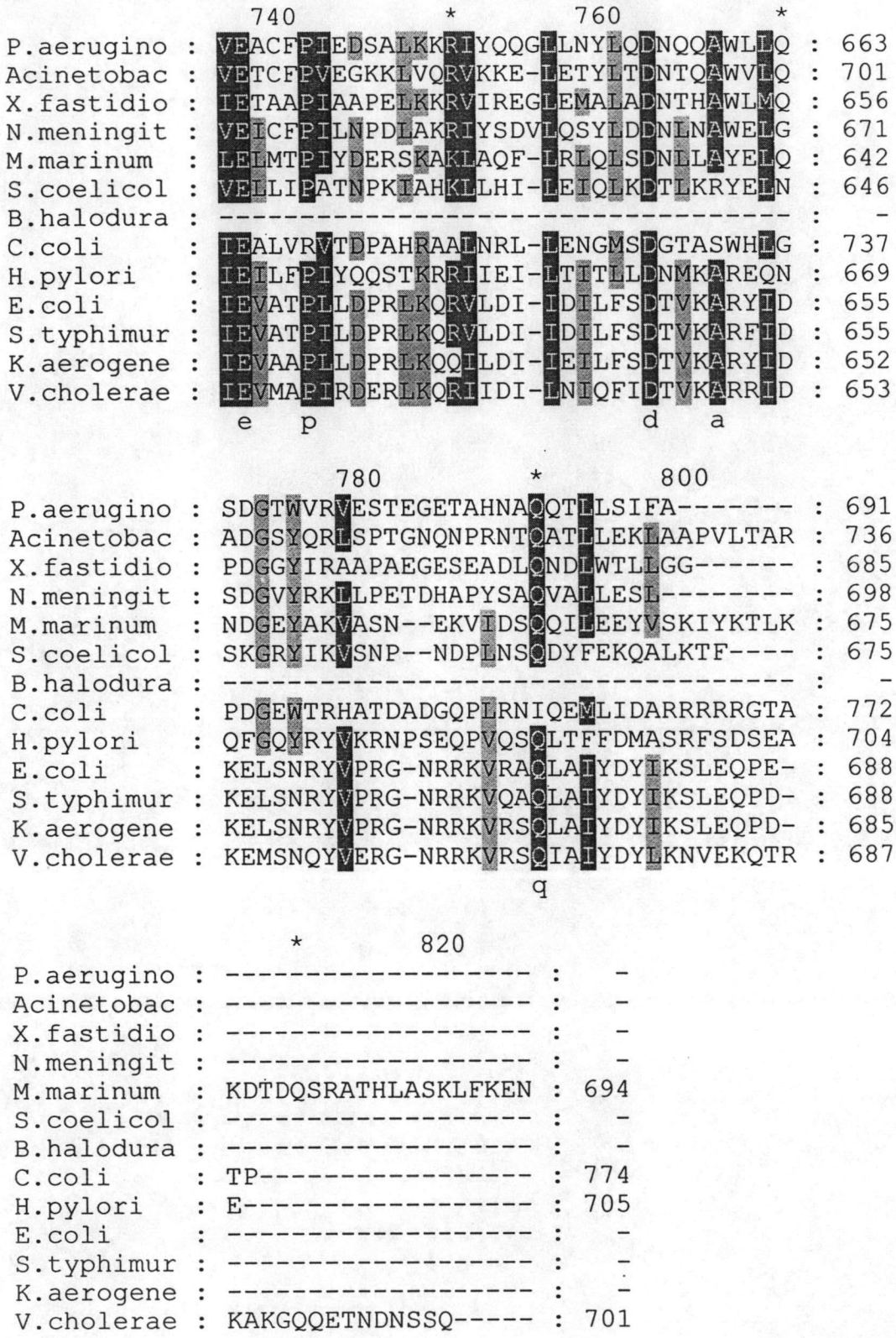

220 * 240
P.aerugino : QSSWVKKYFQEQVAPVLTPISLDPAHPFPRLVNKS : 167
Acinetobac : IKTWVRRFFRDEIAPIITPIGLDPTHPFPLLVNKS : 202
X.fastidio : QKKWIEDYFDRELLPILTPIGLDPSHPFPRPLNKS : 156
N.meningit : QKRWLRGYFRNEIMPVLSPLGLDPAHPFPKIFNKT : 173
M.marinum : LKQKVYEYFFSTIFPVIVPIAVDATHPFPHLNNLS : 155
S.coelicol : QKAKAKTYFKEQLYALVLPFKLDSSHTFPPLANLT : 152
B.halodura : ---------- : -
C.coli : EQARLFTLFRHRIFPVLTPLAVDPAHPFPYISGLS : 241
H.pylori : QRSFLEKRFDHYIFPVLTPMAVDAYRPFPMLLNKS : 170
E.coli : QQNWLRHYFKQYLRQHITPILINPDTDLVQFLKDD : 153
S.typhimur : QQSWLRHYFKHYLRQHITPILINRETDLVQFLKDD : 153
K.aerogene : QQNWLRHYFKHYLRQHITPILINRETDLVQFLKDD : 153
V.cholerae : QLKWVKKYFHKVMLPHVTPIMLRDDIDVMQFLKDE : 153
f p
* 260 * 280
P.aerugino : LN-FVITLEGKDAFGRQIDLAVVPAPR-SLPRVVR : 200
Acinetobac : LN-FIVELEGMDAFGRDSGLAIIPAPR-LLPRIIR : 235
X.fastidio : LN-FAVELDGTDAFGRPSGMAIVQAPR-ILPRVVP : 189
N.meningit : LN-IVVVLNGIDAFGRAGHLAIVRAPR-SLPRIIE : 206
M.marinum : FS-LAVNICDNTHPELI-KFGMIRIPR-VLPRFYE : 187
S.coelicol : FA-LFARIKD-KETQII-SYALIKLPS-FIFRFVE : 183
B.halodura : ---------- : -
C.coli : LN-LAVVVRNPVTGHR--HFARVKVPP-LLSRFLE : 272
H.pylori : LN-LAVVIKNKESDSRE-QLAIVQVPS-VLNRFIL : 202
E.coli : YTYLAVEIIR--GDTIR--YALLEIPSDKVPRFVN : 184
S.typhimur : YTYLAVEIIR--GDTIN--YALLEIPSDKVPRFVN : 184
K.aerogene : YTYLAVEIIR--GESIR--YPLLEIPSDKVPRFVN : 184
V.cholerae : YAYIAVEMRS--GDEFK--YALIEIPTDQLPRFVM : 184
a p r
* 300 *
P.aerugino : LPDELTG-GKEHHVMLSAIIHEHVSDLFPG---MT : 231
Acinetobac : LPEDVGG-EGDNYVFLSSMIHAHADDLFPG---MK : 266
X.fastidio : LPSELCG-GGHGFVFLSSILHAHVGKLFPG---MN : 220
N.meningit : LPQHLSRDGSQNFVFLSSVLSAFVGELFPG---MV : 238
M.marinum : V-------SANVYVPIESIVEKHTEEIFPG---YK : 212
S.coelicol : L-------EKGLFVLAEEIVEAHLEELFLE---HE : 208
B.halodura : ---------- : -
C.coli : A-------SPGRYVPVEDVIAAHLEELFPG---ME : 297
H.pylori : LPCED---GKNQFILLENVISYFIEKLFKG---YT : 231
E.coli : LPPEAPR-RRKPMILLDNILRYCLDDIFKGFFDYD : 218
S.typhimur : LPPETPR-RRKPMILLDNILRYCLDDIFKGFFDYD : 218
K.aerogene : LPPETPR-RRKPMILLDNILRYCLDDIFKGFFDYD : 218
V.cholerae : LPEQKGK-RRKTIILLDNIIRLCLDEIFRGFYDYD : 218
f g


320 * 340 *
P.aerugino : ATGCYQFRVTRNADLALN-EDVEDLAKALKGELSS : 265
Acinetobac : VKGCYQFRLTRNADLSVDTEDVEDLARALRGELFS : 301
X.fastidio : VKGCHQFRLTRDSDLTVDEEDLQNLRAAIQNELHD : 255
N.meningit : VRGAYQFRVTRNSELVVDEDEVENLALALRNELVT : 273
M.marinum : LLTSAAFRVTRNADMVIEEEEADDFMMILEQGLKL : 247
S.coelicol : ILDCMAFRVTCDADIAITEDEAHDYADLMSKSLRK : 243
B.halodura : ---------- : -
C.coli : VLEHHTFRLTRNEDLEVEEDDAENLLQALEKELMR : 332
H.pylori : VKSVSPFRITRNADLPIHEEGARDLLREIEKELKK : 266
E.coli : ALNAYSMKMTRDAEYDLVHEMEASLMELMSSSLKQ : 253
S.typhimur : ALNAYSMKMTRDAEYDLVHEMESSLMELMSSSLKQ : 253
K.aerogene : ALNAYSMKMTRDAEYDLVHEMEASLMELMSSSLKQ : 253
V.cholerae : TLNGYAMKMTRDAEYDLRHEVEYSLLEQMSEGLSQ : 253
tr l l
360 * 380
P.aerugino : RRFGRAVRLEVTEN-CPKHIYEYLLD--------- : 290
Acinetobac : RRYGDAVRLEVVDT-CPQNLTNYLLK--------- : 326
X.fastidio : REYGDGVRLEVADT-CPAYIRDFLLA--------- : 280
N.meningit : RGYRLAVRLEIAED-CPTPIVRTLLQ--------- : 298
M.marinum : RRKGAFVRLQIQKG-ADEQIVEFLN------TH-- : 273
S.coelicol : RNQGEIVRLQTQKG-SQELLKTLLASLRSFQTHSY : 277
B.halodura : ---------- : -
C.coli : RRLGPPVRLEVEES-VDREVLDLLVR--------- : 357
H.pylori : RKWGAAVRLEMQEGLMDPNVLKLLLD--------- : 292
E.coli : RLTAEPVRFVYQRD-MPNALVEVLRE--------- : 278
S.typhimur : RLTAEPVRFVYQRD-MPAALVDVLRE--------- : 278
K.aerogene : -PDAEPVRFVYQRD-MPDAMVEMLRD--------- : 277
V.cholerae : RLTALPVRFVYERE-MPEAMLKFLCY--------- : 278
r vr l
* 400 * 420
P.aerugino : -EFDLDEEQLYKVEG-PVNLARLLSN---FKRPHL : 320
Acinetobac : -QFGLSESELYKVSG-PVNLTRLFSVTGLESHPEL : 359
X.fastidio : -QFKLTAAELYQVKG-PVNLVRLNAVPDLVNRPDL : 313
N.meningit : -NFGLQENAVYRING-PVNLSRVSQVYDMVLRPEL : 331
M.marinum : --MKIFHKDVYEYSI-LLNLPSLWQIAGNKTFTHL : 305
S.coelicol : KKHKLTGMHIYKSAI-MLNLGDLWELVNHSDFKAL : 311
B.halodura : -ELDVHPGDVIEVPG-LLDLSSLWQIYG-LDRPAL : 32
C.coli : -ELKIGEAEVYPLPG-PLDLTGLFRIHS-IDRPEL : 389
H.pylori : -VLEIHKNDVYSLQG-PLDLTFLFKLY---NRLIV : 322
E.coli : -KLTISRYDSIVPGGRYHNFKDFINFPN-VGKANL : 311
S.typhimur : -KLTISRYDSIVPGGRYHNFKDFINFPN-VGKANL : 311
K.aerogene : -KLTISRYDSIVPGGRYHNFKDFIGFPN-VGKANL : 310
V.cholerae : -KLKISHYDSLIPGGRYHNFKDFISFPN-VGRDYL : 311
g 1


* 440 *
P.aerugino : RYDSHTPVIP-----KILKKSENIFAAMQKQDILL : 350
Acinetobac : QYPPFTPAIP-----RLLQKKENLFNVLSKLDVLL : 389
X.fastidio : KFPTHTPGRL-----KALGKTASIFDLVRQSPILL : 343
N.meningit : KYPPFNP--------RTLRNSDHIFEIIAKGDVLL : 358
M.marinum : LSPLYTPKTL---PPFDENLS--IFDAIDKEDILI : 335
S.coelicol : KSPNFTPKIH---PHFNEND---LFKSIEKQDLLL : 340
B.halodura : KDRTFVPATHPAFAERETPKS--IFATLREGDVLV : 65
C.coli : KYPKFVAGTHRDLAEVESASAPDIFAALRTKDVLL : 424
H.pylori : DYEHLTNETLIPQPPEDLIGETNIFDAILKRDIFL : 357
E.coli : VNKPLPRLRH---IWFDKAQFRNGFDAIRERDVLL : 343
S.typhimur : VNKPLPRLRH---LWFDKEKFRNGFDAIRERDVLL : 343
K.aerogene : VNKPLPRLRH---LWFDK--FRNGFDAIRERDVLL : 340
V.cholerae : ENKPLPPMTC---ADFEG--YANAFDAIRAQDILL : 341
F d61
460 * 480 *
P.aerugino : HHPFESFAP-VINLLREAARDPQVLAIKQTLYRSG : 384
Acinetobac : MHPFESFTP-VIDLLRQAAKDPNVLAIKQTLYRSG : 423
X.fastidio : HHPYQSFDP-VVEMMRERAADPDVLAVKMTIYRTG : 377
N.meningit : YHPYDAFTA-VLDLLRQAAADPDVLAIKQTLYRTG : 392
M.marinum : IQPFESFDP-VYKFIKEASKDPEVISIRMTLYRVE : 369
S.coelicol : FHPYESFEP-VIDLIEQAASDPATLSIKMTLYRVG : 374
B.halodura : HHPYYSFSTSVQRFIEQAAADPNVLAIKQTLYRTS : 100
C.coli : HHPYDSFSTSVQAFLEQAAADPDVLAIKQTLYRTS : 459
H.pylori : HHPYESFQP-VIDFIATAAEDPQVLAIKQTLYRVS : 391
E.coli : YYPYHTFEH-VLELLRQASFDPSVLAIKINIYRVA : 377
S.typhimur : YYPYHTFEH-VLELLRQASFDPSVLAIKINIYRVA : 377
K.aerogene : YYPYHTFEH-VLELLRQASFDPSVLAIKINIYRVA : 374
V.cholerae : HYPYHSFEH-MTELVRQASFDPKVVSIKINIYRVA : 375
P F a DP v a 4 YR
500 * 520
P.aerugino : PDSEIVQILAEAARNGKEVTAVIELRARFDEESNI : 419
Acinetobac : ANSEIVDALVEAARNGKEVTAVIELRARFDEESNL : 458
X.fastidio : TRSELVRALMKAALAGKQVTVVVELMARFDEANNV : 412
N.meningit : KDSTIVDALIQAARSGKDVTVVVELRARFDEEANL : 427
M.marinum : KNSNIVQALIGAASAGIQVTVMVELKARFDEENNL : 404
S.coelicol : KHSPIVKALIEAASK-IQVSVLVELKARFDEESNL : 408
B.halodura : GDSPIVRALIDAAEAGKQVVALVEIKARFDEQ--- : 132
C.coli : GDSPIVDALIEAAESGKQVLVLVEIKARFDESANI : 494
H.pylori : GDSPIINALARAAENGKQVTVLVELKARFDEENNI : 426
E.coli : KDSRIIDSMIHAAHNGKKVTVVVELQARFDEEANI : 412
S.typhimur : KDSRIIDSMIHAAHNGKKVTVVVELQARFDEEANI : 412
K.aerogene : KDSRIIDAMIHAAHNAKKVTVVVELQARFDEEANI : 409
V.cholerae : KDSKLMNSLVDAVHNGKRVVVVVELQARFDEEANI : 410
S Aa gk V v E ARFDE n


* 540 * 560
P.aerugino : AVANVLQEAGAVVVYGIVGYKTHAKMIMVVRRENN : 454
Acinetobac : QLASRLQQAGAVVIYGVVGFKTHAKMMLILRREDG : 493
X.fastidio : NWAKQLEEAGAHVVYGVFGYKVHAKMALVIRREDG : 447
N.meningit : GLADKLQEAGVQVVYGVVGYKTHAKMLLIVRREGR : 462
M.marinum : HWAKALENAGAHVIYGITGFKVHAKVSQVIRKKGD : 439
S.coelicol : HWAKALERAGALVVYGVFKLKVHAKMLLITKKTDN : 443
B.halodura : ---------- : -
C.coli : KWARKLEESGCHVVYGLVGLKTHCKLSLVVRQEGE : 529
H.pylori : QWAKKLEKSGVHVIYGITGLKTHSKITLVVRHHND : 461
E.coli : HWAKRLTEAGVHVIFSAPGLKIHAKLFLISRKENG : 447
S.typhimur : HWAKRLTEAGVHVIFSAPGLKIHAKLFLISRKEGD : 447
K.aerogene : HWARRLTEAGVHVIFSAPGLKIHAKLFLISRKEGD : 444
V.cholerae : EWSRILTDAGVHVIFGVPGMKIHAKLLLITRKEGD : 445
a l ag v g k hak
* 580 *
P.aerugino : KLVRYVHLGTGNYHAGNARIYTDYGLLTTDKELCE : 489
Acinetobac : ELRRYAHLGTGNYHAGNARLYTDYSLLTADVALCE : 528
X.fastidio : VLKRYAHLGTGNYHQGTSRIYTDFGIITADEQITA : 482
N.meningit : KLRRYVHLGTGNYHSGTARIYTDLSLMTANAAIGK : 497
M.marinum : KLKFYMHLSTGNYNASSAKIYTDVSYFTSKVEFAR : 474
S.coelicol : QLRHFTHLSTGNYNPLSAKVYTDVSFFSAKNEIAN : 478
B.halodura : ---------- : -
C.coli : TLRRYSHVGTGNYHPKTARLYEDLGLLTSDPQVGA : 564
H.pylori : EIQRFVHLGTGNYNDSTAKLYTDMGLLTADEEFGI : 496
E.coli : EVVRYAHIGTGNFNEKTARLYTDYSLLTADARITN : 482
S.typhimur : DVVRYAHIGTGNFNEKTARLYTDYSLLTADARITN : 482
K.aerogene : DVVRYAHIGTGNFNEKTSLIYTDYSLLTADARITN : 479
V.cholerae : EFVRYAHIGTGNFHERTARIYTDFALLTANQELAA : 480
r h gtgn a ytd
600 * 620 *
P.aerugino : DVHRIFQ-ELTGMGKMAKLKKLLHAPFTLHAQLLN : 523
Acinetobac : DLHKLFN-QLIGMGKTLRMKKLLHAPFTLKKNLLE : 562
X.fastidio : DVNTLFM-EITGLGKPGRLNKLYQSPFTLHKMVID : 516
N.meningit : DVHQLFL-QLSGLAPKMKLECLLQSPFTLHAGVLF : 531
M.marinum : DTTSFFH-ILSGFSKNRRLQTLSMSPNQIKEKILE : 508
S.coelicol : DIIKLFHSLLTSSATNSALETLFMAPKQIKPKIIE : 513
B.halodura : ---------- : -
C.coli : DLSDLFN-RLSGYSRRETYRRLLVAPKSLRDGLVS : 598
H.pylori : DATNFFN-HLSGYSEKPQWHHLSTAPFEIRDTFLD : 530
E.coli : EVRRVFN-FIENPYRPVTFDYLMVSPQNSRRLLYE : 516
S.typhimur : EVRRVFN-FIENPYRPVTFDYLMVSPQNSRRLLYE : 516
K.aerogene : EVRRVFN-FIENPYRPVSFDYLLVSPQNSRRLLYD : 513
V.cholerae : EVRAVFG-YIENPFRPVKFNHLIVSPRNSRTQIYR : 514
f l p


640 * 660
P.aerugino : FIDDEIANVKAGKPAHIIVKVNALTELQLINKLYE : 558
Acinetobac : MINREAAQAALGQPAHIMAKVNSLTDPKVIRALYK : 597
X.fastidio : RIARETEHAKAGKPARITAKMNSLIEPTVIEALYR : 551
N.meningit : RIERETKFARKGRPARIVAKMNALNEPQVVRALYV : 566
M.marinum : MIALEAS-K--GSEGVIIAKMNSLVDSDIIKALYE : 540
S.coelicol : LIQNEMN-H--QQEGYIILKANALVDSEIIEWLYQ : 545
B.halodura : ---------- : -
C.coli : RIHKEIQHHRAGRPAHVRIKVNSMVDEAVVDACYR : 633
H.pylori : LIDQEIECHKQNGNGHIIAKMNSLTDKPIILKLYE : 565
E.coli : MVDREIANAQQGLPSGITLKLNNLVDKGLVDRLYA : 551
S.typhimur : MIDREIANAQQGLPSGITLKLNNLVDKGLVDRLYA : 551
K.aerogene : MIDKEIANAQKGLSSGITLKLNNLVDKGLVDRLYA : 548
V.cholerae : LLDSEIANAKAGKKAAITLKVNNLVDKGLINKLYG : 549
e g k n ly
* 680 * 700
P.aerugino : ASQAGVQIDLIIRSICCLRPGLPGLSENIRVRSIV : 593
Acinetobac : ASQAGVRIDLVVRGMCCLRPGIPGVSHNIHVRSII : 632
X.fastidio : ASAAGVQIDLIVRGMCTLRPGVKGLSENIRVRSII : 586
N.meningit : ASQAGVQIDLIVRGACTLRPGVQDISENIRVRSIV : 601
M.marinum : ASIKGTQIDLIVRGIFCLKPNEE-FSKNILVRSII : 574
S.coelicol : ASQKGVKIDLIIRGICCLKPQVKGLSENIRVYSIV : 580
B.halodura : ---------- : -
C.coli : ASQAGVPVDVWVRGICALRPGVPGLSENIRVRSVL : 668
H.pylori : ASRAGVRIELIVRGICCLRPGIPNVSEHIRVFSIV : 600
E.coli : ASSSGVPVNLLVRGMCSLIPNLEGISDNIRAISIV : 586
S.typhimur : ASGSGVQVNLLVRGMCSLIPQLEGISDNIRAISIV : 586
K.aerogene : ASSSGVPVNLLIRGMCSLIPELEGISDNIRVISIV : 583
V.cholerae : ASAAGVKIRMIIRGMCSLVPGVEGVSDNIEIISII : 584
as gv rg c l p s ni s
* 720 *
P.aerugino : GRFLEHTRVYYFSNNGDARIYCSSADWMDRNLFNR : 628
Acinetobac : GRFLEHSRIYYFLNGGDEKLYLSSADWMERNLDMR : 667
X.fastidio : GRQLEHARVYCFHNNGADDTFISSADWMGRNFFRR : 621
N.meningit : GRFLEHSRVYWFANNGTPELFCASADWLERNLLRR : 636
M.marinum : GKYLEHARVEYFKHS-EPNYFISSADWMPRNLERR : 608
S.coelicol : GKYLEHARIYYFKH---ENIYFSSADLMPRNLERR : 612
B.halodura : ---------- : -
C.coli : GRFLEHSRVFAFGNGGEPEVWLGSADMMHRNLDRR : 703
H.pylori : DRFLEHSRIFYFHHGGDDKVFLSSADWMTRNMEKR : 635
E.coli : DRYLEHDRVYIFENGGDKKVYLSSADWMTRNIDYR : 621
S.typhimur : DRYLEHDRVYIFENGGDKQVWLSSADWMTRNIDYR : 621
K.aerogene : DRYLEHDRIYIFDNAGDKQVYLSSADWMTRNIDYR : 618
V.cholerae : DRFLEHPRVLVVHNDGNPQVFISSADWMERNIDHR : 619
leh r f g ssadw rn r


740 * 760 *
P.aerugino : VEACFPIEDSALKKRIYQQGLLNYLQDNQQAWLLQ : 663
Acinetobac : VETCFPVEGKKLVQRVKKE-LETYLTDNTQAWVLQ : 701
X.fastidio : IETAAPIAAPELKKRVIREGLEMALADNTHAWLMQ : 656
N.meningit : VEICFPILNPDLAKRIYSDVLQSYLDDNLNAWELG : 671
M.marinum : LELMTPIYDERSKAKLAQF-LRLQLSDNLLAYELQ : 642
S.coelicol : VELLIPATNPKIAHKLLHI-LEIQLKDTLKRYELN : 646
B.halodura : ---------- : -
C.coli : IEALVRVTDPAHRAALNRL-LENGMSDGTASWHLG : 737
H.pylori : IEILFPIYQQSTKRRIIEI-LTTTLLDNMKAREQN : 669
E.coli : IEVATPLLDPRLKQRVLDI-IDILFSDTVKARYID : 655
S.typhimur : IEVATPILDPRLKQRVLDI-IDILFSDTVKARFID : 655
K.aerogene : IEVAAPLLDPRLKQQILDI-IEILFSDTVKARYID : 652
V.cholerae : IEVMAPIRDERLKQRIIDI-LNIQFIDTVKARRID : 653
e p d a
780 * 800
P.aerugino : SDGTWVRVESTEGETAHNAQQTLLSIFA------- : 691
Acinetobac : ADGSYQRLSPTGNQNPRNTQATLLEKLAAPVLTAR : 736
X.fastidio : PDGGYIRAAPAEGESEADLQNDLWTLLGG------ : 685
N.meningit : SDGVYRKLLPETDHAPYSAQVALLESL-------- : 698
M.marinum : NDGEYAKVASN--EKVIDSQQILEEYVSKIYKTLK : 675
S.coelicol : SKGRYIKVSNP--NDPLNSQDYFEKQALKTF---- : 675
B.halodura : ---------- : -
C.coli : PDGEWTRHATDADGQPLRNIQEMLIDARRRRRGTA : 772
H.pylori : QFGQYRYVKRNPSEQPVQSQLTFFDMASRFSDSEA : 704
E.coli : KELSNRYVPRG-NRRKVRAQLAIYDYIKSLEQPE- : 688
S.typhimur : KELSNRYVPRG-NRRKVQAQLAIYDYIKSLEQPD- : 688
K.aerogene : KELSNRYVPRG-NRRKVRSQLAIYDYIKSLEQPD- : 685
V.cholerae : KEMSNQYVERG-NRRKVRSQIAIYDYLKNVEKQTR : 687
q
* 820
P.aerugino : ---------- : -
Acinetobac : ---------- : -
X.fastidio : ---------- : -
N.meningit : ---------- : -
M.marinum : KDTDQSRATHLASKLFKEN : 694
S.coelicol : ---------- : -
B.halodura : ---------- : -
C.coli : TP---------- : 774
H.pylori : E---------- : 705
E.coli : ---------- : -
S.typhimur : ---------- : -
K.aerogene : ---------- : -
V.cholerae : KAKGQQETNDNSSQ----- : 701

ภาคผนวก ช.

แสดงตาราง non-standard bases

Non-standard bases	หมายความถึงเบส
I	deoxyinosine
N	A+T+C+G
R	A+G
Y	C+T
M	A+C
K	T+G
S	C+G
W	A+T
H	A+T+C
B	T+C+G
D	A+T+G
V	A+C+G

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสางอุรัจฉวี อุณหเลขกะ เกิดวันที่ 28 มีนาคม พ.ศ. 2519 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2541

ผลงานทางวิชาการที่เข้าร่วมประชุม

Unhalekhaka, U., Kositanont, C. 2000. Polyphosphate accumulating bacteria isolated from Si Phraya wastewater treatment system. Poster presented at the 12th Annual meeting of the Thai Society for Biotechnology. 1-3 November, Felix hotel, Kanchanaburi, Thailand. Abstracts book. p.164.

อุรัจฉวี อุณหเลขกะ และ ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์. 2544. การแยกและจำแนกแบคทีเรียในน้ำเสียที่มีความสามารถในการสะสมสะสมโพลีฟอสเฟตไว้ภายในเซลล์. การเสนอผลงานทางวิชาการแบบโปสเตอร์ที่การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 9. 20-21 มีนาคม, คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.