หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของโครโมโซมอลดีเอนเอ

ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของโครโมโซมอลดีเอนเอ โดยการวัดการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตที่ 260 และ 280 นาโนเมตร และหาอัตราส่วน OD_{260}/OD_{280} ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า อัตราส่วนของ OD_{260}/OD_{280} ของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 คือ 1.787 1.857 1.794 1.811 และ 1.781 ตามลำดับ ค่าที่ได้ซึ่งเป็นค่าละเอียด 3 ตำแหน่งมีค่าใกล้เคียง 1.8 มาก แสดงว่าดีเอนเอที่เตรียมได้มีความบริสุทธิ์สูง (35) ดังนั้นจึงสามารถที่จะนำไปศึกษาการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ได้ โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

ผลการคำนวณหาความเข้มข้นของโครโมโซมอลดีเอนเอจากค่าการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตที่ 260 นาโนเมตร โดยค่า OD_{260} เท่ากับ 1 เทียบเท่ากับความเข้มข้นดีเอนเอ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (35) พบว่าความเข้มข้นของโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 คือ 0.567 0.065 0.480 0.502 และ 2.195 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตที่ 260 และ 280 นาโนเมตร และความเข้มข้นของโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326

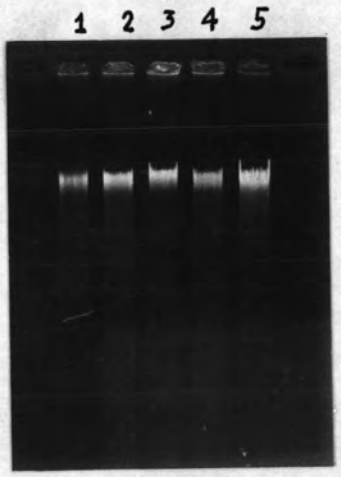
สายพันธุ์	ความเจือจาง (dilution)	OD_{260}	OD_{280}	OD_{260}/OD_{280}	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร)
Streptomyces sp.42-9	1 : 50	0.227	0.127	1.787	0.567
Streptomyces sp. 190-1	1 : 50	0.026	0.014	1.857	0.065
S. glaucescens	1 : 50	0.192	0.107	1.794	0.480
S. coelicolor A3(2)	1 : 50	0.201	0.111	1.811	0.502
S. lividans 1326	1 : 50	0.878	0.493	1.781	2.195

2. การวิเคราะห์ความเป็นโมเลกุลที่สมบูรณ์ของดีเอนเอ (intact DNA)

เพื่อที่จะให้ผลการวิเคราะห์รูปแบบเฉพาะตัวในการตัดดีเอนเอด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ต่าง ๆ ถูกต้องแม่นยำ โมเลกุลของดีเอนเอที่นำมาศึกษาจะต้องอยู่ในรูปโมเลกุลสมบูรณ์ ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องตรวจสอบว่าดีเอนเอที่เตรียมได้อยู่ในรูปโมเลกุลสมบูรณ์จริง

การวิเคราะห์ความเป็นโมเลกุลที่สมบูรณ์ของดีเอนเอ ทำโดยดูจากแถบดีเอนเอที่ปรากฏภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส จากผลการทดลองในรูปที่ 1 ซึ่งเป็นภาพถ่ายของดีเอนเอของ Streptomyces ทั้ง 5 ชนิด ดังกล่าวข้างต้นแถบของดีเอนเอค่อนข้างสะอาดมีลักษณะที่เป็นหมอกบางๆเป็นทางลาดยาวลงมา (tailing) น้อยมาก ซึ่งแสดงถึงการขาดของสายดีเอนเอในกระบวนการสกัดแยกดีเอนเอเกิดขึ้นน้อยมาก ดังนั้นดีเอนเอที่เตรียมได้นี้สามารถนำไปศึกษาการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ได้

รูปที่ 1 แถบโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ที่ปรากฏภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 10 โวลต์/ซม. ของความยาวเจลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 5.5 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 30 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

2 " Streptomyces sp. 190-1

3 " S. glaucescens

4 " S. coelicolor A3(2)

5 " S. lividans 1326

3. การแปรปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการแยกแถบชิ้นส่วนดีเอนเอ

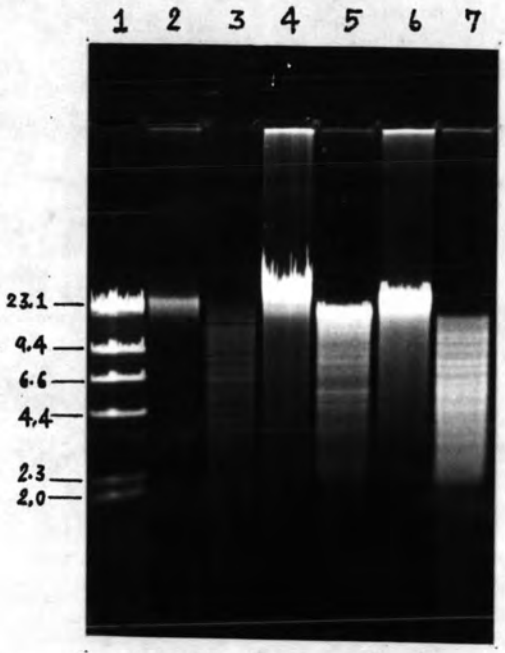
ในการวิเคราะห์รูปแบบเฉพาะตัวของการตัดดีเอนเอด้วยเรสทริกชันเอนไซม์นั้น มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ชนิดของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อดีเอนเอชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมที่จะให้การตัดดีเอนเอเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการที่จะให้แถบดีเอนเอแยกได้ดีที่สุดบนอะกาโรสเจลโดยวิธีอิเลกโทรโฟรีซีส ซึ่งได้แก่ ความต่างศักย์ ระยะเวลาในการทำอิเลกโทรโฟรีซีส ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล เป็นต้น ในการทดลองนี้จึงจะศึกษาปัจจัยที่จะให้ผลการแยกแถบดีเอนเอบนอะกาโรสเจลเกิดขึ้นได้ดีที่สุดโดยจะใช้เรสทริกชันเอนไซม์เพียงชนิดเดียวก่อนคือ BamHI ทั้งนี้เพราะเรสทริกชันเอนไซม์มีราคาแพง เมื่อได้ปัจจัยที่เหมาะสมแล้วจึงจะศึกษารูปแบบเฉพาะตัวในการตัดดีเอนเอเหล่านี้ด้วยเรสทริกชันเอนไซม์อื่น ๆ

การทดลองการแยกแถบชิ้นส่วนดีเอนเอ ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส โดยแปรปัจจัยต่าง ๆได้ผลการทดลองดังนี้

3.1 ปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์

จากผลการทดลองตัดโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 และ S. glaucescens โดยแปรปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์ที่แตกต่างกันคือ 2 4 และ 6 หน่วย/ไมโครกรัมของดีเอนเอ และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสโดยใช้ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล ดังรูปที่ 2ก 2ข และ 2ค ตามลำดับ พบว่าปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์ 2 หน่วย/ไมโครกรัมของดีเอนเอ (รูปที่ 2ก) ตัดโครโมโซมอลดีเอนเอได้ไม่สมบูรณ์และชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอแยกได้ไม่เด่นชัด ปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์ 4 หน่วย/ไมโครกรัมของดีเอนเอ (รูปที่ 2ข) ตัดโครโมโซมอลดีเอนเอได้ค่อนข้างสมบูรณ์ขึ้นและชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอแยกได้ชัดเจนยิ่งขึ้น และที่ปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์ 6 หน่วย/ไมโครกรัมของดีเอนเอ (รูปที่2ค) ตัดโครโมโซมอลดีเอนเอได้สมบูรณ์ที่สุดและชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอแยกได้ชัดเจนมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณเรสทริกชันเอนไซม์ 6 หน่วย/ไมโครกรัมของดีเอนเอ ร่วมกับการแปรปัจจัยอื่น ๆ ต่อไป

รูปที่ 2ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 และ S. glaucescens ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 2 หน่วย / โมโครกรัมของดีเอนเอ โดยการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม.โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

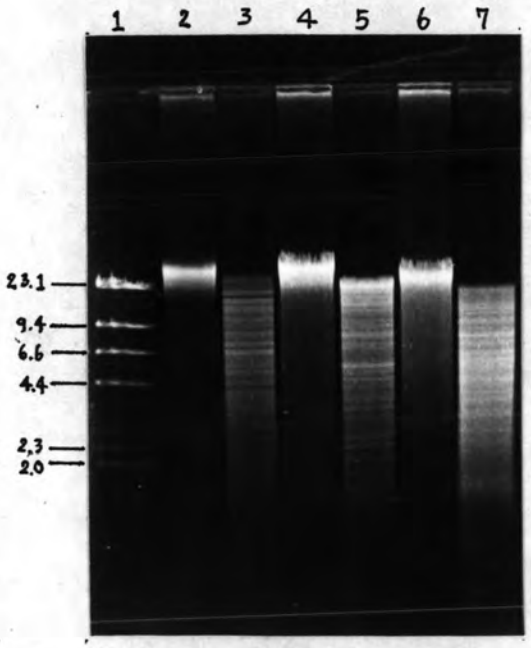
4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 2ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 และ S. glaucescens ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 4 หน่วย / โมโครกรัมของดีเอนเอ โดยการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม.โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

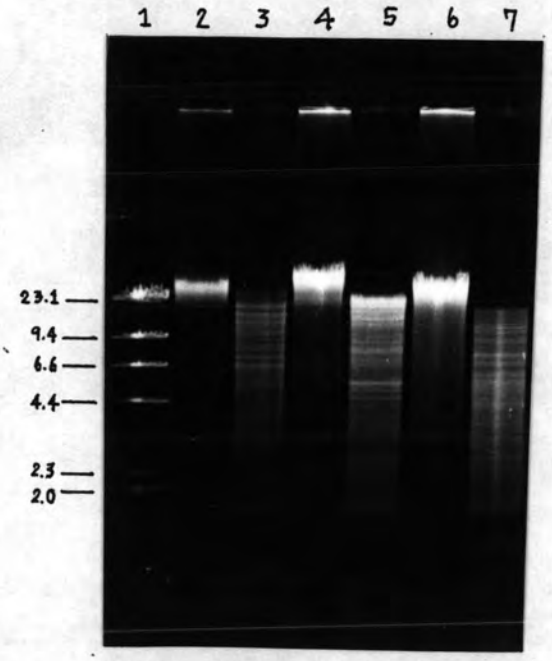
4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 2ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 และ S. glaucescens ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย / โมโครกรัมของดีเอนเอ โดยการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม.โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ /Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

3.2 ความต่างศักย์ในการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส

เพื่อให้การแยกชิ้นส่วนดีเอนเอบนอะกาโรสเจลเป็นไปได้ดีที่สุด ความต่างศักย์ในการทำอิเลกโทรโฟรีซีสจะเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่ง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces ชนิดต่าง ๆ ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย /ไมโครกรัมของดีเอนเอ มาแยกโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส โดยแปรความต่างศักย์ต่าง ๆ คือ 6 8 10 12 14 16 และ 18 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล ดังรูปที่ 3ก 3ข 3ค 3ง 3จ 3ฉ และ 3ช ตามลำดับ พบว่าการแยกชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอจะมีความชัดเจนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อเพิ่มความต่างศักย์ขึ้นโดยพบว่าที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ / ซม. ของความยาวเจล (รูปที่ 3จ) ให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่แยกกันชัดเจนที่สุด แต่พบว่าถ้ายิ่งเพิ่มความต่างศักย์เป็น 16 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล (รูปที่ 3ฉ) หรือ 18 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล (รูปที่ 3ช) ความชัดเจนของรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอกลับลดลงตามลำดับ ดังนั้นในการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสในการทดลองต่อ ๆ ไป จะเลือกใช้ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล

ช่องที่ 1 λ /Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

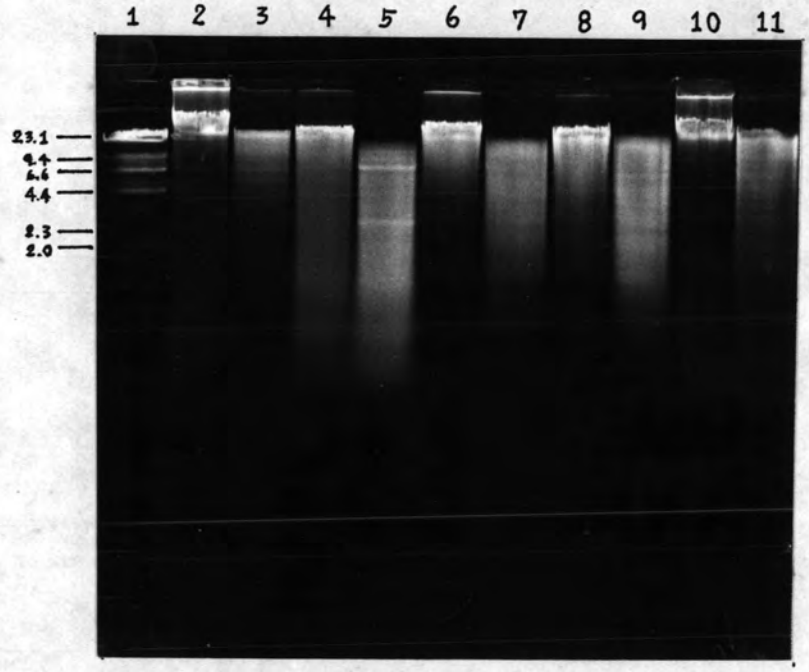
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 6 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

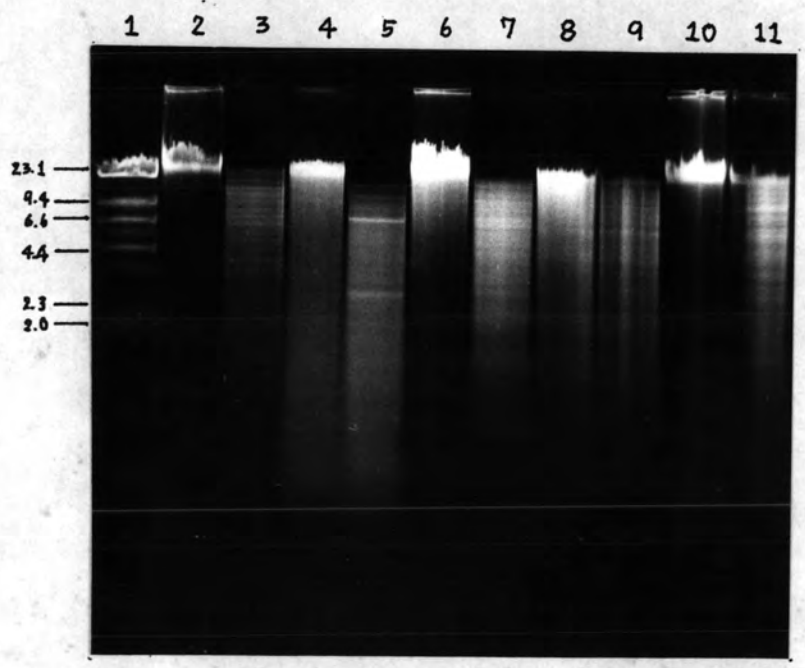
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

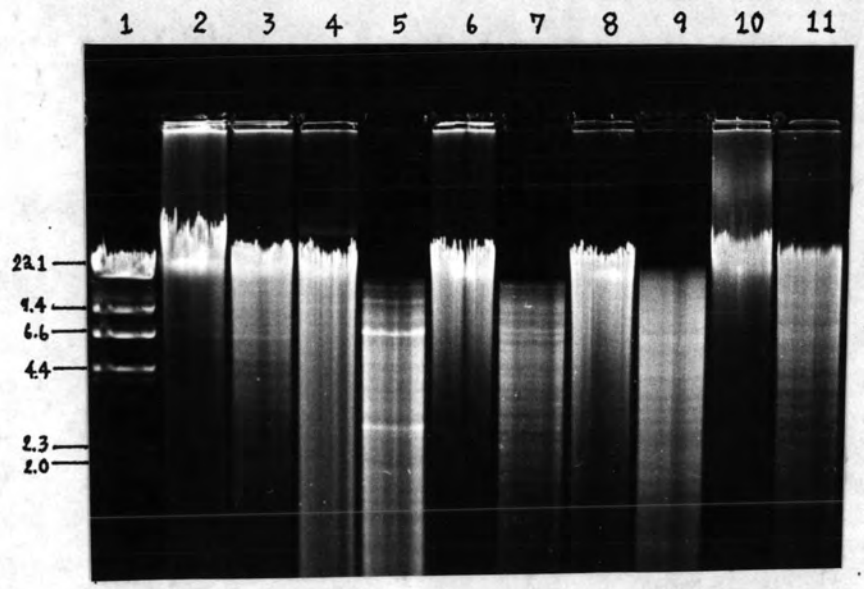
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 10 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

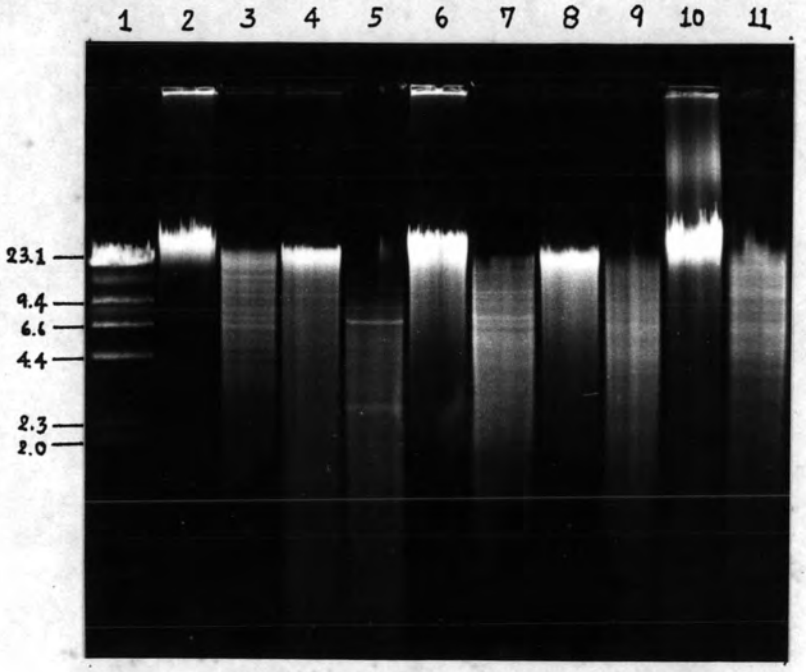
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 12 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

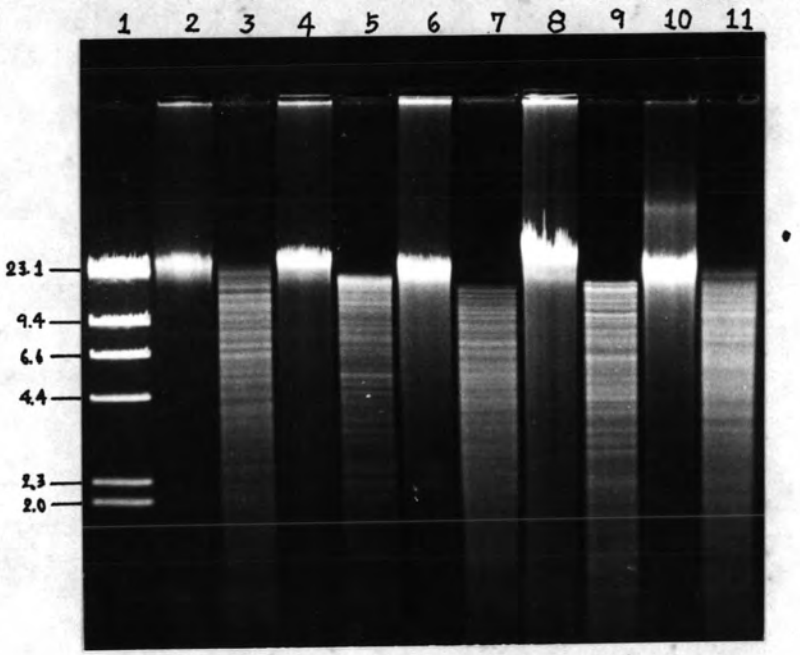
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3จ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

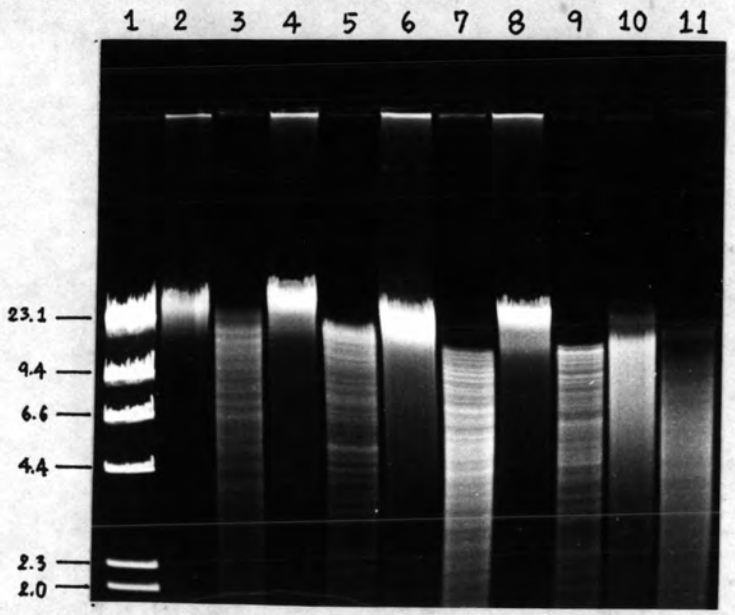
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ฉ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 16 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

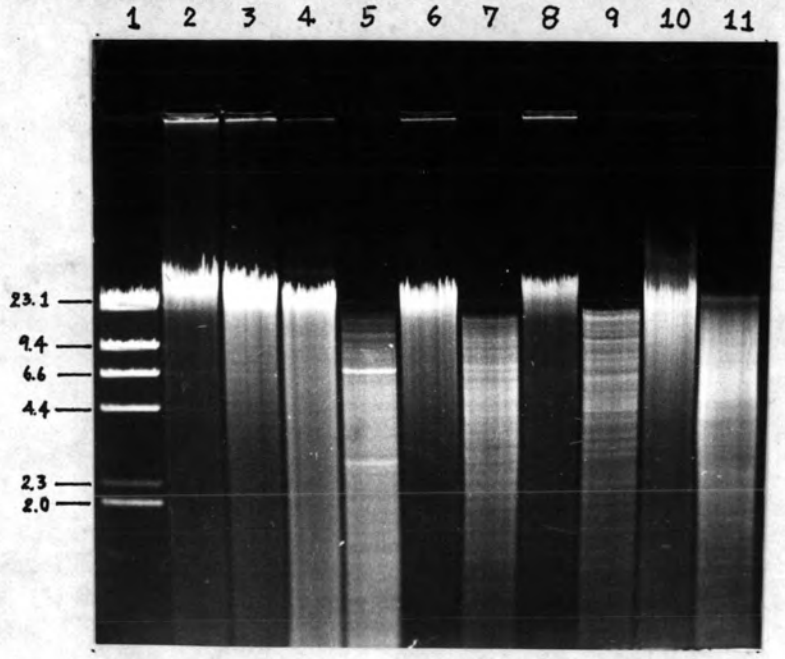
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 3ช รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 18 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



3.3 เวลาในการทำอะกาโรสเจลอิเลคโทรโฟรีซีส

ในการที่จะให้ชิ้นส่วนขนาดใหญ่ของดีเอนเอแยกออกจากกันได้ชัดเจนยิ่งขึ้น จึงได้ทดลองเพิ่มเวลาของการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีสซีสจาก 1 ชั่วโมง 30 นาที ซึ่งเป็นช่วงเวลาการเคลื่อนที่ของสีติดตามจากขั้วลบไปยังสุดปลายขั้วบวกเป็น 2 ชั่วโมง 30 นาที โดยปล่อยให้สีติดตามหลุดออกไปจากเจลซึ่งคาดว่าชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดใหญ่จะแยกออกจากกันได้ชัดเจนมากขึ้น ซึ่งจะทำให้สามารถบอกความแตกต่างของโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces spp. ได้แม่นยำขึ้น ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4ก และ 4ข จะสังเกตได้ว่าเมื่อใช้เวลาในการทำอะกาโรสเจลเป็น 1 ชั่วโมง 30 นาที (รูปที่ 4ก) ยังคงให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่ชัดเจนมากกว่าที่ 2 ชั่วโมง 30 นาที (รูปที่ 4ข)

3.4 เปอร์เซ็นต์ของอะกาโรสเจล

ความเข้มข้นของอะกาโรสเจลก็มีส่วนสำคัญในการแยกชิ้นส่วนดีเอนเอขนาดต่างๆ ออกจากกันได้โดยที่ความเข้มข้นเหมาะสมจะทำให้การแยกชิ้นส่วนดีเอนเอเกิดขึ้นได้ดีที่สุด ดังนั้นการทดลองนี้จึงแปรเปอร์เซนต์ของอะกาโรสต่าง ๆ กันคือ 0.5 0.6 0.7 และ 0.8% และตรวจสอบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces ต่างๆ ที่ผ่านการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 5ก 5ข 5ค และ 5ง พบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอจะชัดเจนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อเพิ่มอะกาโรสเจลจาก 0.5% (รูปที่ 5ก) เป็น 0.6% (รูปที่ 5ข) และ 0.7% (รูปที่ 5ค) ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มอะกาโรสเจลเป็น 0.8% (รูปที่ 5ง) ความชัดเจนของรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอจะลดลง ดังนั้นอะกาโรสเจล 0.7% จะให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอชัดเจนที่สุด

i17307405

รูปที่ 4 รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที (รูปที่ 4ก) และ 2 ชั่วโมง 30 นาที (รูปที่ 4ข) บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม

ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

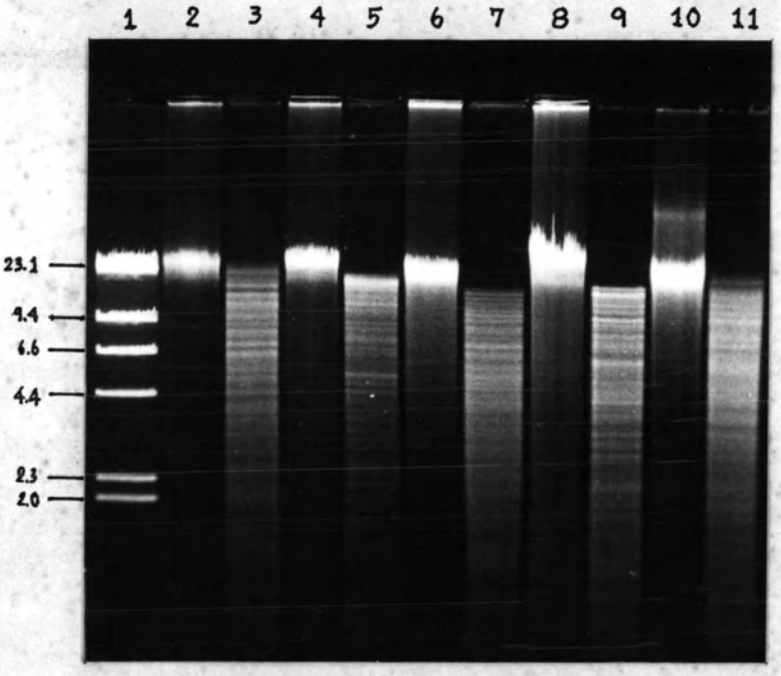
7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

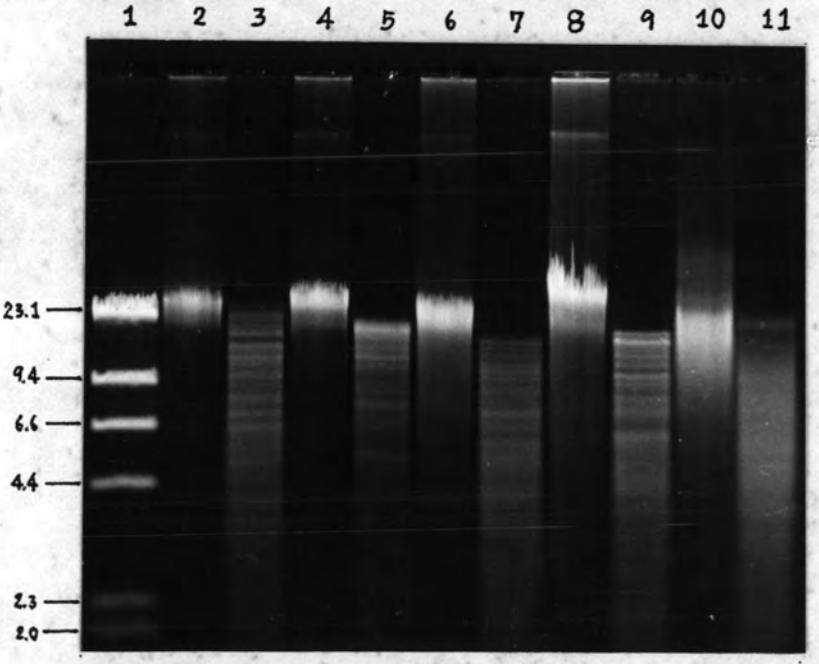
9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI



รูปที่ 4ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส 1 ชั่วโมง 30 นาที



รูปที่ 4ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส 2 ชั่วโมง 30 นาที

ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

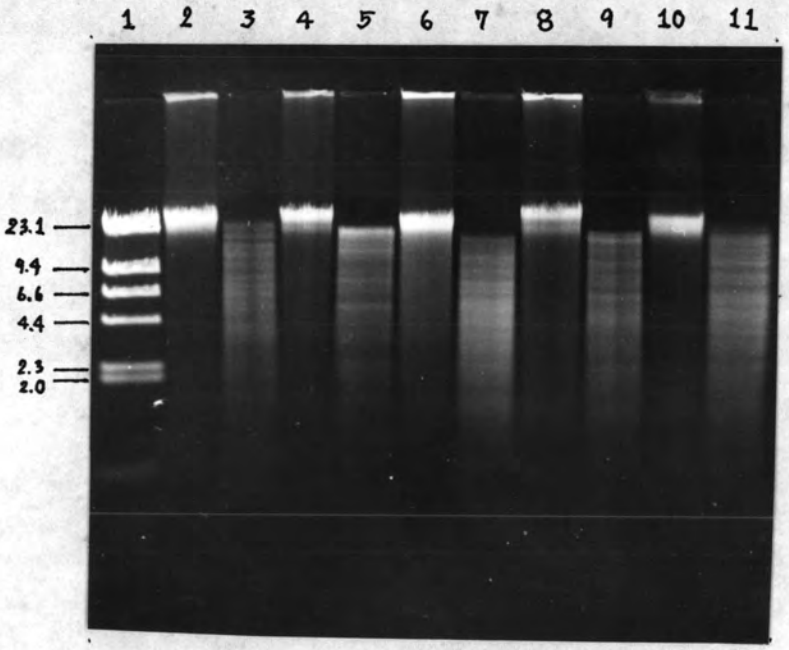
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 5ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.5% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

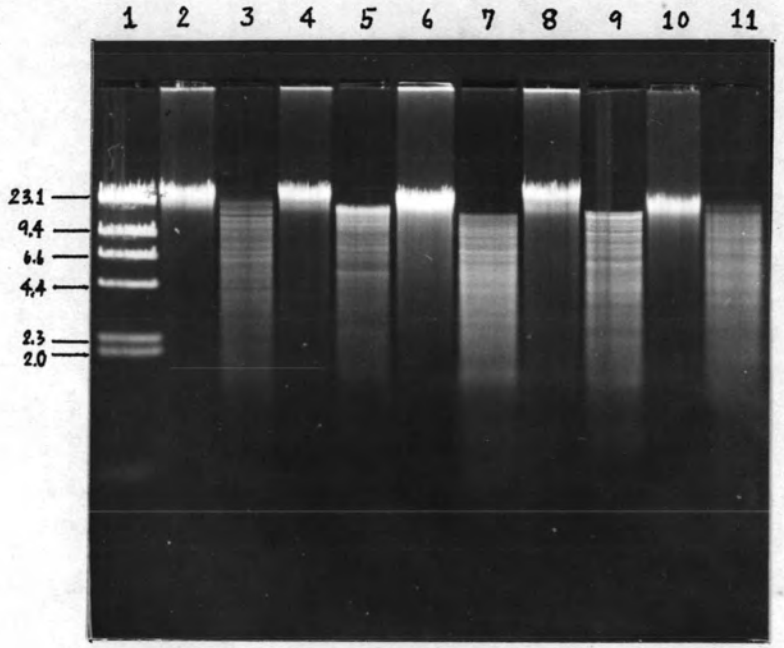
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 5ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.6% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

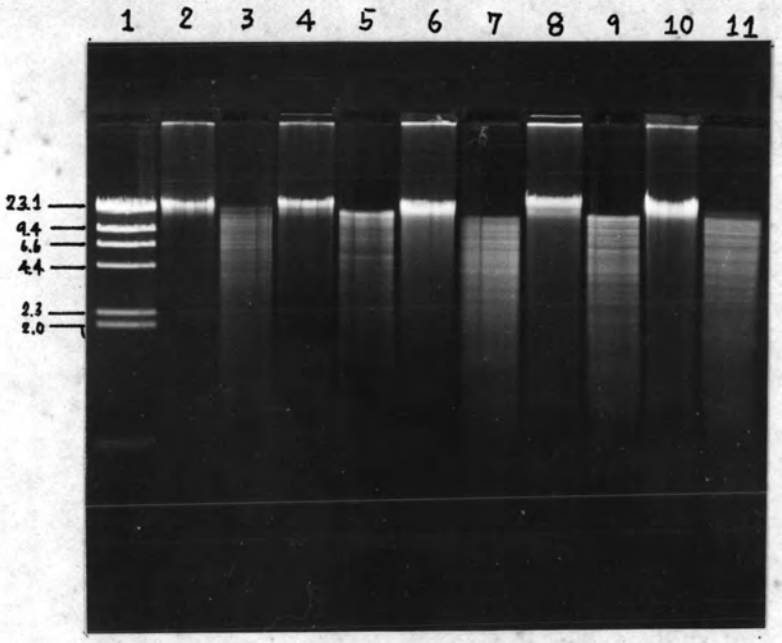
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 5ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

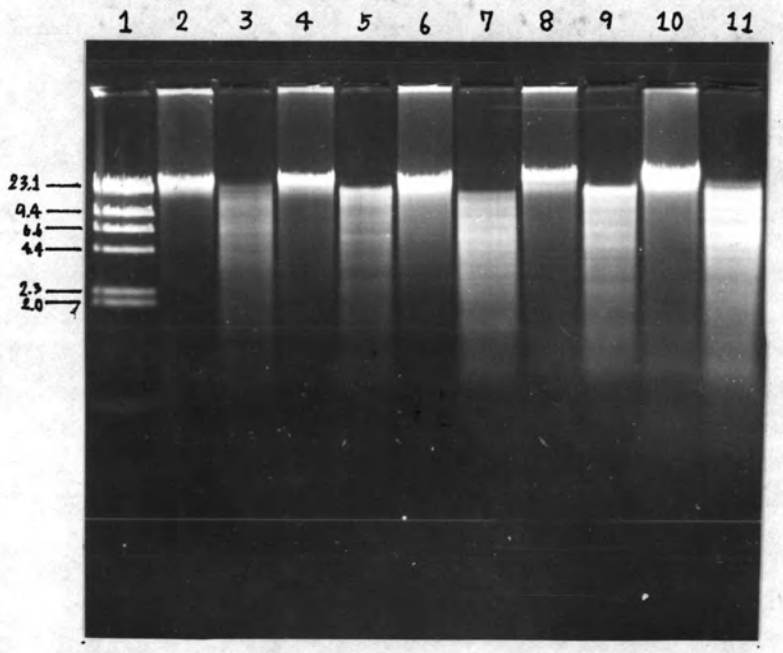
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A3(2)
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 5ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.8% และมีความยาว 7 ซม. โดย แต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



3.5 ความยาวของเจล

การเพิ่มความยาวของแผ่นอะกาโรสเจลก็อาจทำให้การแยกของชิ้นส่วนดีเอนเอขนาดใกล้เคียงออกจากกันได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้เพิ่มความยาวของแผ่นเจลเป็น 15 ซม. แต่จากผลการทดลองพบว่ารูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอบนอะกาโรสเจล ที่มีความยาว 7 ซม. (รูปที่ 4ก) ภายหลังการทำอิเลกโทรโฟรีซีสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที มีรูปแบบการเรียงตัวที่ชัดเจนมากกว่าเมื่อเพิ่มความยาวของเจลเป็น 15 ซม. และใช้เวลาในการทำอิเลกโทรโฟรีซีสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (รูปที่ 6ก) หรือเพิ่มเวลาการทำอิเลกโทรโฟรีซีสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (รูปที่ 6ข)

ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

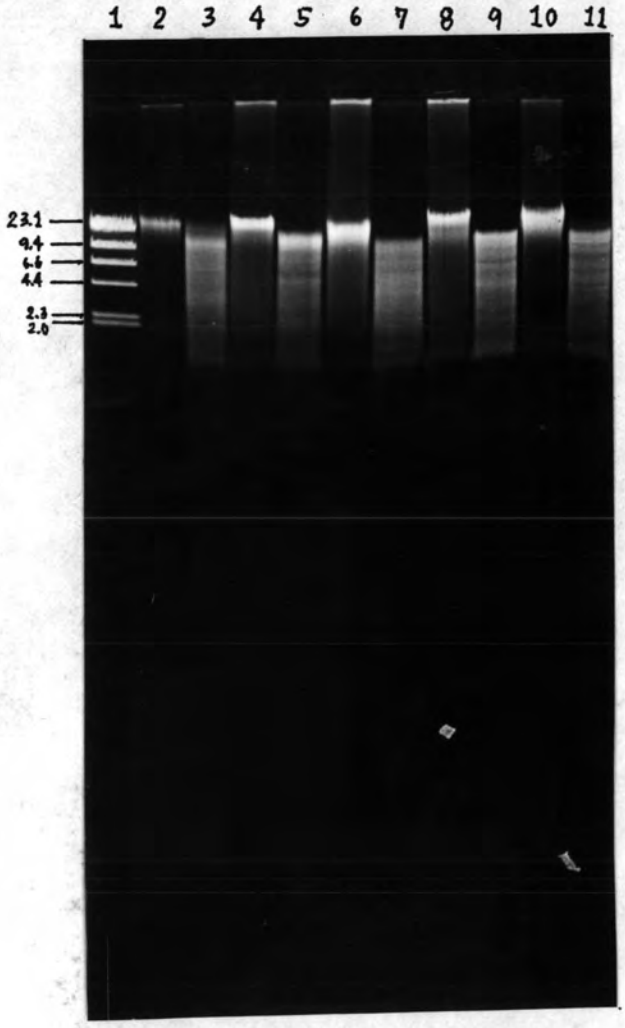
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 6ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 15 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

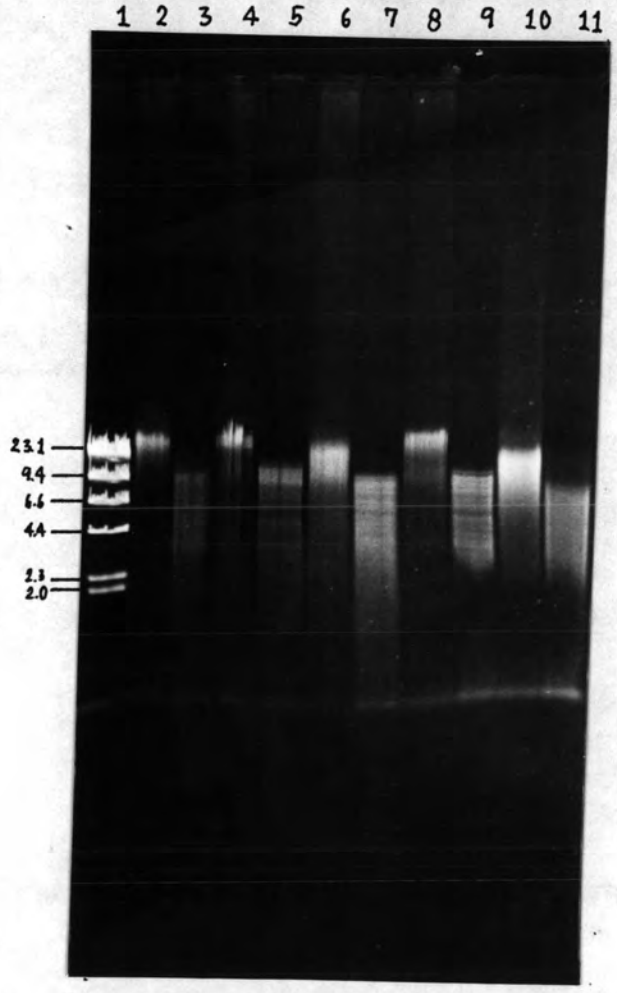
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A (3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 6ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 15 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



4. การเลือกชนิดของเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตัดโครโมโซมอลดีเอนเอ

การเลือกชนิดของเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตัดโครโมโซมอลดีเอนเอ ทำโดยการตรวจดูรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ BamHI (รูปที่ 7ก) BglII (รูปที่ 7ข) EcoRI (รูปที่ 7ค) HindIII (รูปที่ 7ง) PstI (รูปที่ 7จ) Sau3AI (รูปที่ 7ฉ) และ XbaI (รูปที่ 7ช) ซึ่งเรสทริกชันเอนไซม์แต่ละชนิดดังกล่าวจะตัดดีเอนเอที่บริเวณจดจำ (recognition site) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์จำเพาะ ดังนี้คือ G'GATCC A'GATCT G'AATTC A'AGCTT C'TGCA 'GATC และ T'CTAGA ตามลำดับ (36) ผลการทดลองพบว่า PstI (รูปที่ 7จ) สามารถตัดโครโมโซมอลดีเอนเอได้อย่างสมบูรณ์และได้ชิ้นส่วนของโครโมโซมอลดีเอนเอที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน รองลงมาคือ BamHI (รูปที่ 7 ก) BglII (รูปที่ 7 ข) และ EcoRI (รูปที่ 7 ค) ตามลำดับ ถึงแม้ว่า BglII และ EcoRI จะตัดโครโมโซมอลดีเอนเอได้ไม่สมบูรณ์ แต่ก็ยังได้ชิ้นส่วนดีเอนเอที่แตกต่างกันชัดเจน ส่วน HindIII (รูปที่ 7ง) ตัดโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ได้ไม่สมบูรณ์ จึงทำให้การแยกชิ้นส่วนดีเอนเอไม่เด่นชัด นอกจากนั้นโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 ไม่มีบริเวณจดจำที่จะถูกตัดได้ด้วย HindIII

ผลการทดลองนี้พบว่าเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI และ Sau3AI ไม่เหมาะสมที่จะใช้ตัดโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces ชนิดต่าง ๆ ที่นำมาศึกษานี้ ทั้งนี้เพราะโครโมโซมอลดีเอนเอเหล่านี้ไม่มีบริเวณจดจำจำเพาะที่จะถูกตัดโดย XbaI ในขณะที่ Sau3AI มีความถี่สูงในการตัดโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces จึงทำให้ได้ชิ้นส่วนขนาดเล็กมากมาย ซึ่งหลุดออกจากอะกาโรสเจลไปในระหว่างการทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีส

ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

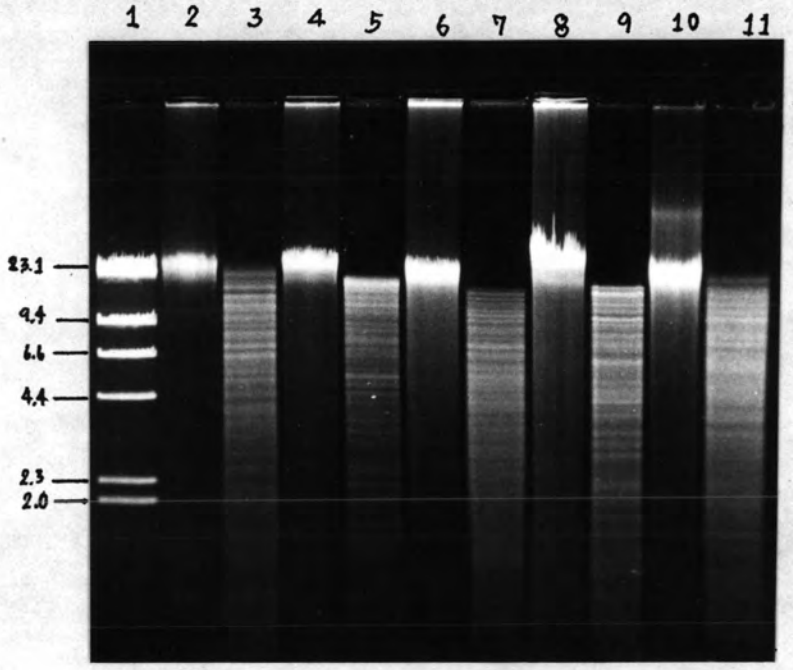
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 7ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

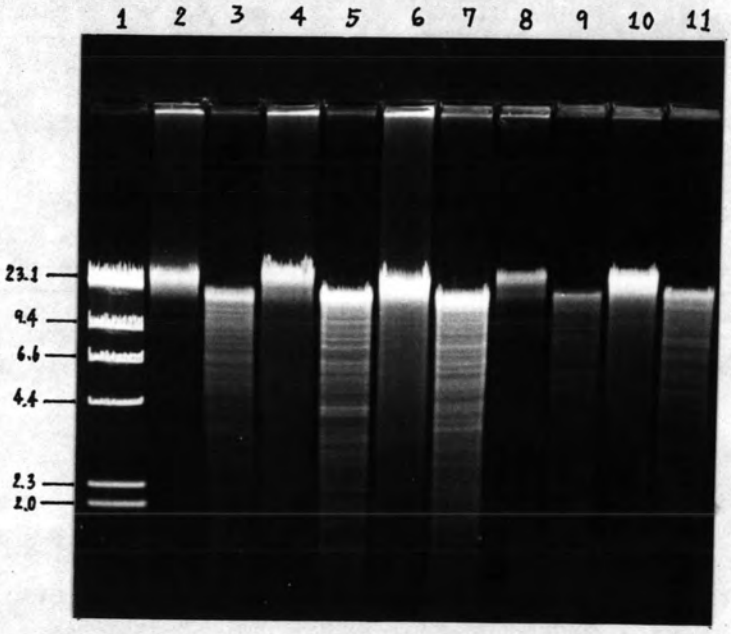
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

รูปที่ 7ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

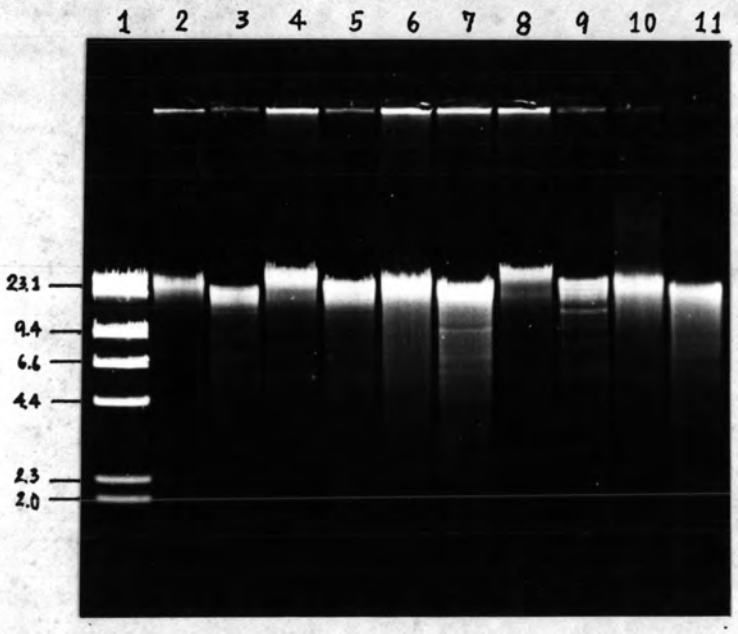
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

รูปที่ 7ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII

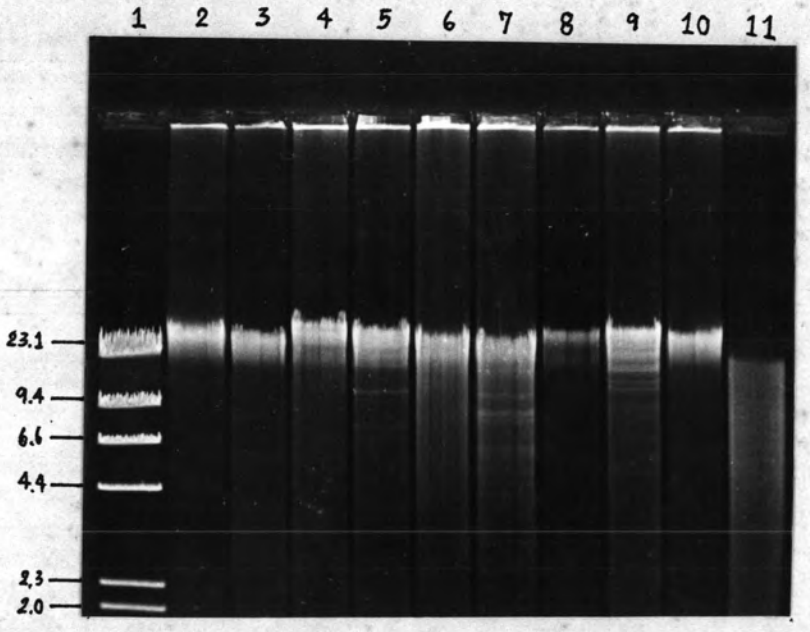
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII

รูปที่ 7ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

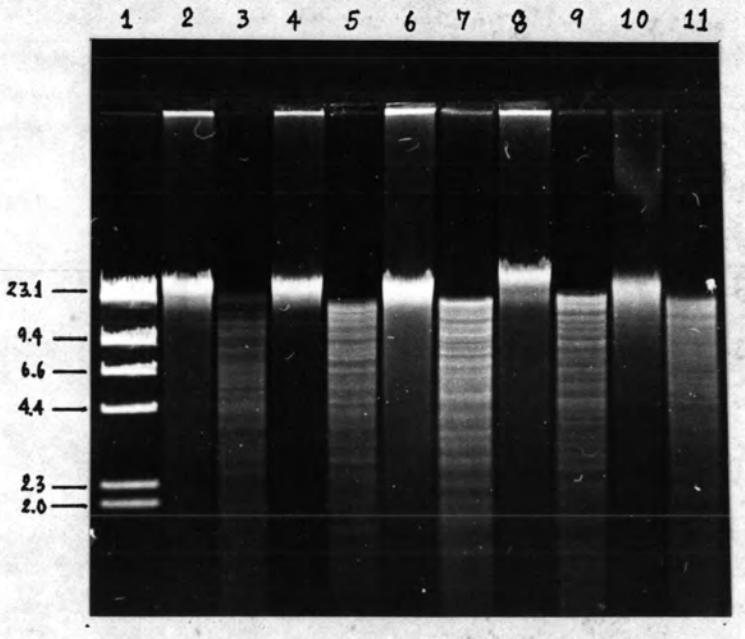
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

รูปที่ 7จ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI

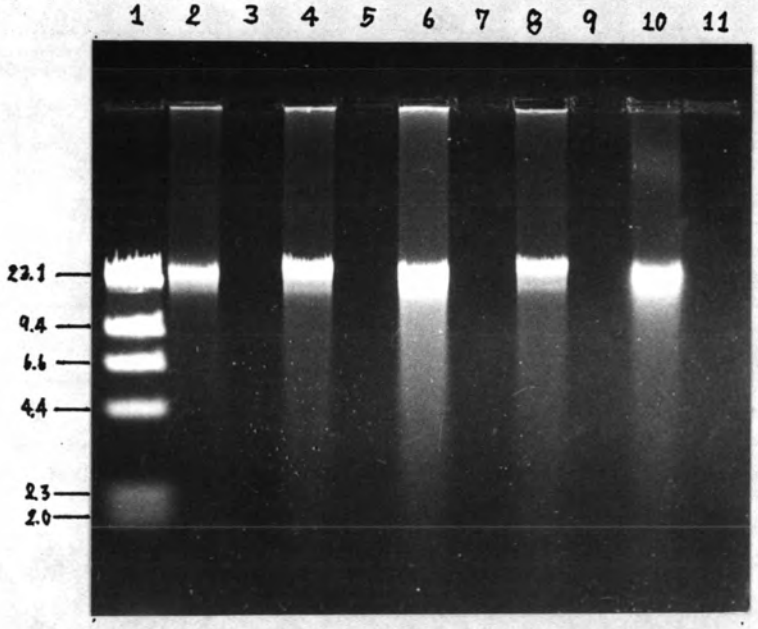
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI

รูปที่ 7ฉ รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ Sau3AI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 190-1
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. glaucescens
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI

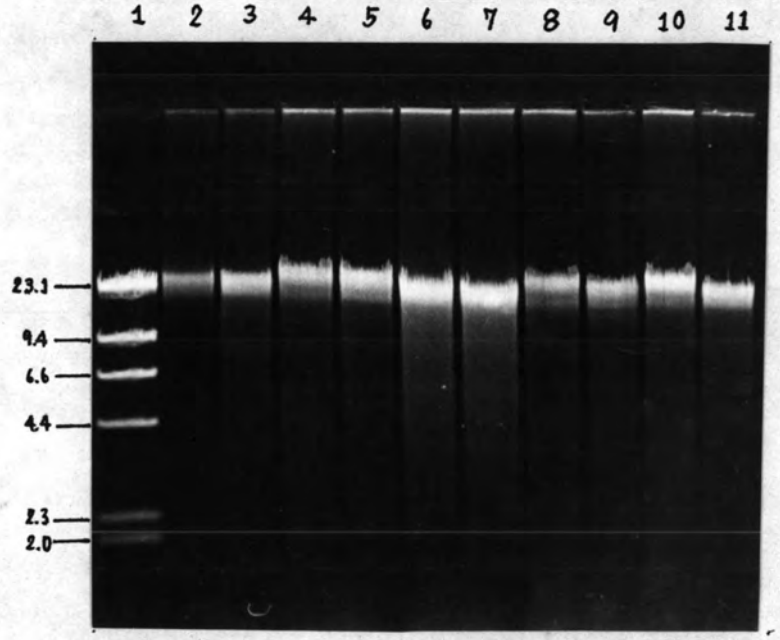
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. coelicolor A(3)2
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ S. lividans 1326
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI

รูปที่ 7ช รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ XbaI และทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์ /ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบการเรียงตัวของแถบชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces ที่ทราบชนิดบนอะกาโรสเจลที่ผ่านการทำอิเลกโทรโฟรีซีส

ผลการทดลองเลือกชนิดของเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตัดโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces ต่าง ๆ ที่ทราบชนิดแน่นอนแล้ว ดังผลการทดลองในรูปที่ 7ก - 7ช พบว่า PstI (รูปที่ 7จ) เป็นเรสทริกชันเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด เพราะให้ผลการตัดที่ค่อนข้างสมบูรณ์ รองลงมาคือ BamHI (รูปที่ 7ก) BglII (รูปที่ 7ข) และ EcoRI (รูปที่ 7 ค) ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำผลการทดลองที่ได้ดังกล่าวมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของ Streptomyces กับรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอ และขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอ การหาขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอทำโดยใช้ ดีเอนเอที่ย่อยด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ HindIII เป็นขนาดดีเอนเอมาตรฐาน โดยนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log_{10}$ ของขนาดชิ้นส่วนดีเอนเอและระยะทางที่ดีเอนเอเคลื่อนที่ ผลการวิเคราะห์การตัดโครโมโซมอลดีเอนเอด้วย PstI BamHI BglII และ EcoRI ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4ก 4ข 4ค และ 4ง ตามลำดับ พบว่าลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces ที่ทราบชนิดทั้ง 5 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เมื่อจัดแบ่งเป็นแถบเด่น (prominent band) ของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kbขึ้นไปและชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb

ตารางที่ 4ก ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI (จากรูปที่ 7จ)

เชื้อ	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป(kb)	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb(kb)
Streptomyces sp.42-9	22.0 15.0 13.0 11.0	8.4
Streptomyces sp.190-1	17.0 14.0 10.5	6.4 5.4 4.5 3.7 2.7
S. glaucescens	20.0 15.0 11.0	9.4 8.0 7.0 4.6
S. coelicolor A3(2)	17.0 15.0 12.0 10.5	9.4 6.4
S. lividans 1326	22.0 14.0 10.5	7.0 5.8 4.6

ตารางที่ 4ข ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ *Streptomyces* sp. 42-9 *Streptomyces* sp. 190-1 *S. glaucescens* *S. coelicolor* A3(2) และ *S. lividans* 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI (จากรูปที่ 7ก)

เชื้อ	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป(kb)	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb(kb)
Streptomyces sp.42-9	23.1 17.5 14.0	8.0 7.2 6.2
Streptomyces sp.190-1	-	7.4 4.8 3.6 3.2 2.4 2.2
S. glaucescens	15.5 14.5 11.5 10.0	9.4 7.2 6.2
S. coelicolor A3(2)	20.0 18.0 11.5	6.2 4.3 3.3 3.0
S. lividans 1326	21.0	9.4 7.2 3.5

หมายเหตุ เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

ตารางที่ 4ค ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII (จากรูปที่ 7ข)

เชื้อ	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป(kb)		ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb(kb)			
Streptomyces sp.42-9	12.0	11.0	9.0	8.0	7.6	6.6
Streptomyces sp.190-1	10.0		8.5	7.5	6.2	5.8
			4.4	4.0		
S. glaucescens		-	8.0	6.6	6.0	5.6
			5.2	4.5	4.4	4.0
			3.7			
S. coelicolor A3(2)	13.0	10.0	8.6	7.0	6.0	5.2
S. lividans 1326	15.0		8.6	8.4	7.4	6.0
			5.6	5.2		

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

ตารางที่ 4ง ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 42-9 Streptomyces sp. 190-1 S. glaucescens S. coelicolor A3(2) และ S. lividans 1326 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI (จากรูปที่ 7ค)

เชื้อ	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป(kb)	ชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb(kb)
Streptomyces sp.42-9	15.0	9.0 8.0 6.8 6.0
Streptomyces sp.190-1	13.0 10.5	9.4 8.5 7.0
S. glaucescens	-	8.5 7.0 6.0 5.4
S. coelicolor A3(2)	13.5 10.5	6.0
S. lividans 1326	-	8.5 6.6 5.4

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

6. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบการเรียงตัวของแถบชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces ที่ไม่ทราบชนิดกับ Streptomyces ที่ทราบชนิดบนอะกาโรสเจลที่ผ่านการทำอิเลกโทรโฟรีซีส

6.1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบการเรียงตัวของแถบชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces sp.20306 Streptomyces sp.41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 กับ Streptomyces ที่ทราบชนิด

วิเคราะห์ลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอและขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอตามวิธีดังกล่าวข้างต้น โดยใช้เรสทริกชันเอนไซม์ที่สามารถบอกความแตกต่างได้ชัดเจนคือ PstI BamHI BglII และ EcoRI ดังผลการทดลองรูปที่ 8ก 8ข 8ค และ 8ง ตามลำดับ และหาขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอ ภายหลังการตัดด้วย PstI BamHI BglII และ EcoRI ดังตารางที่ 5ก 5ข 5ค และ 5ง ตามลำดับ พบว่าแถบเด่นของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป และชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb ของ Streptomyces ที่ไม่ทราบชนิดดังกล่าว มีบางชิ้นส่วนที่มีขนาดเท่ากันกับชิ้นส่วนของ Streptomyces ที่ทราบชนิด ตัวอย่างเช่น

ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่ปรากฏเด่นชัดของ Streptomyces sp. 20306 ภายหลังการตัดด้วย PstI ดังแสดงไว้ในตาราง 5ก เปรียบเทียบกับขนาดชิ้นส่วนดังกล่าวของ Streptomyces ที่ทราบชนิดจากตาราง 4ก พบว่าชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 มีขนาด 14.0 kb เท่ากันกับ Streptomyces sp. 190-1

ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่ปรากฏเด่นชัดของ Streptomyces sp. 111-04 ภายหลังการตัดด้วย BglII ดังแสดงในตาราง 5ค เปรียบเทียบกับขนาดชิ้นส่วนดังกล่าวของ Streptomyces ที่ทราบชนิดจากตาราง 4ค พบว่า Streptomyces sp. 111-04 มีขนาด 10.0 และ 6.0 kb เท่ากันกับ S. coelicolor A3(2)

ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

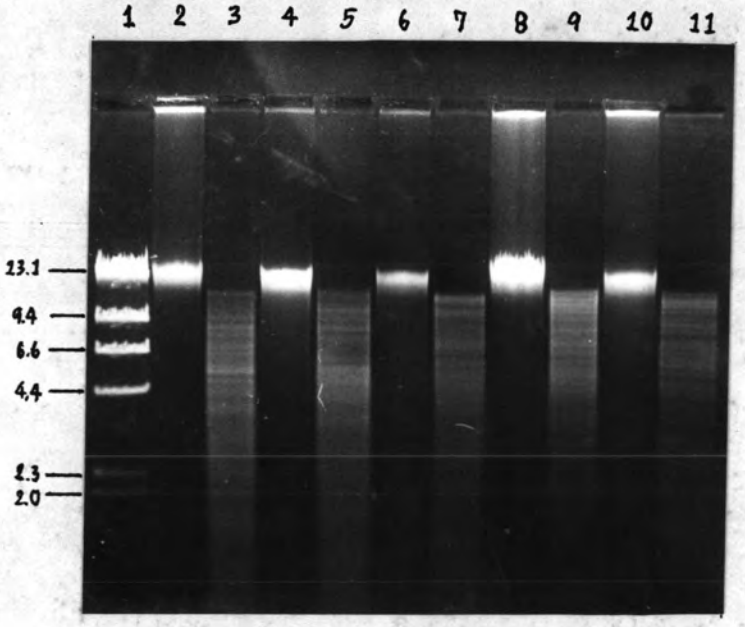
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

รูปที่ 8ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดเรสทริกชันเอนไซม์ PstI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

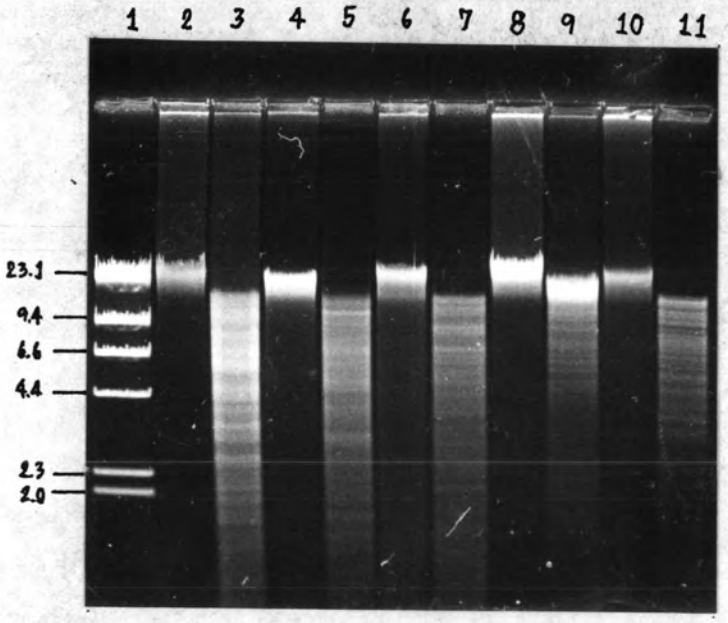
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 8ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย/ไมโครกรัม ดีเอนเอ โดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

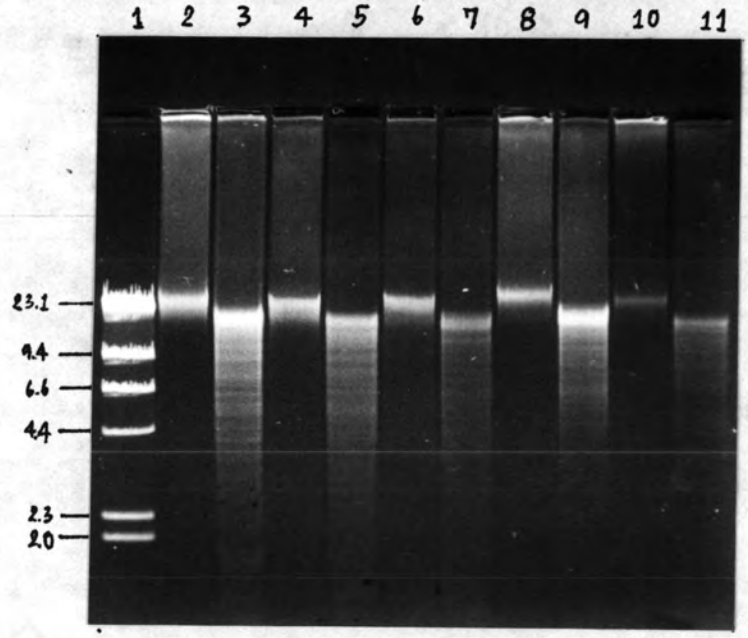
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

รูปที่ 8ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดเรสทริกชันเอนไซม์ BglII 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/HindIII

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 41-10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 111-04 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

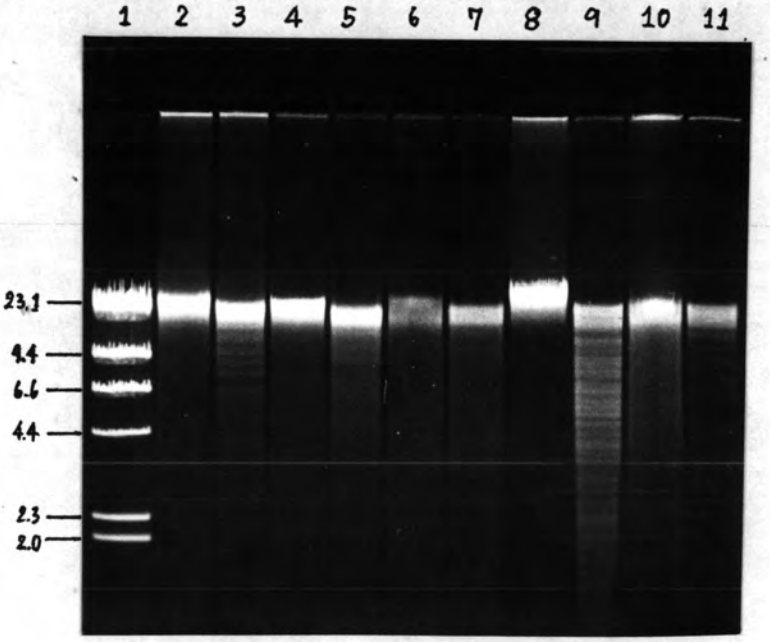
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 8.3.7 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 11-4 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

รูปที่ 8ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอะกาโรสเจลอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ตารางที่ 5ก ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI (จากรูปที่ 8ก)

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป (kb)	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb (kb)
Streptomyces sp. 20306	14.0	8.8 8.0 6.6 5.6 5.2
Streptomyces sp. 41-10	13.0 10.5	8.0 7.0
Streptomyces sp. 111-04	12.0 10.0	6.8 5.8
Streptomyces sp. 8.3.7	14.0 12.5 10.0	7.6
Streptomyces sp. 11-4	15.0 12.0 10.5	8.4 7.6 6.6 5.6 5.2

ตารางที่ 5ข ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI (จากรูปที่ 8ข)

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb
Streptomyces sp. 20306	-	4.2 3.3 3.0 2.5 2.4 2.1
Streptomyces sp. 41-10	11.0	7.0 4.8 2.9 1.75
Streptomyces sp. 111-04	14.5 12.0	9.0 8.6 6.8 2.1
Streptomyces sp. 8.3.7	11.0 10.5	9.0 7.2 6.6 6.0 5.8
Streptomyces sp. 11-4	14.5 12.5 11.0 10.0	9.4 5.0 3.5

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

ตารางที่ 5ค ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII (จากรูปที่ 8ค).

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb
Streptomyces sp. 20306	-	8.6 7.0 6.6 5.8 5.2
Streptomyces sp. 41-10	10.5	8.2 7.2 5.8 5.2
Streptomyces sp. 111-04	11.2 10.0	6.0
Streptomyces sp. 8.3.7	10.0	8.0 6.2
Streptomyces sp. 11-4	14.0 11.2 10.0	

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

ตารางที่ 5ง ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 20306 Streptomyces sp. 41-10 Streptomyces sp. 111-04 Streptomyces sp. 8.3.7 และ Streptomyces sp. 11-4 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI (จากรูปที่ 8ง).

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb
Streptomyces sp. 20306	12.0 10.0	8.8 8.0 6.8
Streptomyces sp. 41-10	-	9.2
Streptomyces sp. 111-04	-	-
Streptomyces sp. 8.3.7	13.0 11.5	9.4 8.0 6.8 5.4
Streptomyces sp. 11-4	14.0 11.5	8.0

6.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบการเรียงตัวของแถบชิ้นส่วนดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 กับ Streptomyces ที่ทราบชนิด

วิเคราะห์ลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอนเอและขนาดของชิ้นส่วนดีเอนเอตามวิธีดังกล่าวข้างต้น โดยใช้เรสทริกชันเอนไซม์ที่สามารถบอกความแตกต่างได้ชัดเจนคือ PstI BamHI BglII และ EcoRI ดังผลการทดลองรูปที่ 9ก 9ข 9ค และ 9ง ตามลำดับ และหาขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอ ภายหลังการตัดด้วย PstI BamHI BglII และ EcoRI ดังตารางที่ 6ก 6ข 6ค และ 6ง ตามลำดับ พบว่าแถบเด่นของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป และชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb ของ Streptomyces ที่ไม่ทราบชนิดดังกล่าว มีบางชิ้นส่วนที่มีขนาดเท่ากันกับชิ้นส่วนของ Streptomyces ที่ทราบชนิด ตัวอย่างเช่น

ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่ปรากฏเด่นชัดของ Streptomyces sp. 50-5 ภายหลังการตัดด้วย PstI ดังแสดงไว้ในตาราง 6ก เปรียบเทียบกับขนาดชิ้นส่วนดังกล่าวของ Streptomyces ที่ทราบชนิดจากตาราง 4ก พบว่าชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5 มีขนาด 12.0 และ 9.4 kb เท่ากันกับ S. coelicolor A3(2)

ขนาดชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอที่ปรากฏเด่นชัดของ Streptomyces sp. 43-5 ภายหลังการตัดด้วย BamHI ดังแสดงในตาราง 5ข เปรียบเทียบกับขนาดชิ้นส่วนดังกล่าวของ Streptomyces ที่ทราบชนิดจากตาราง 4ข พบว่า Streptomyces sp. 43-5 มีขนาด 10.0 และ 7.2 kb เท่ากันกับ S. glaucescens

จากผลการวิจัยดังกล่าว ถึงแม้ว่าจะมีชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces ต่าง ๆ บางชิ้นส่วนที่มีขนาดเท่ากันก็ตาม แต่เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอแล้ว พบว่าแตกต่างกันโดยสิ้นเชิง ดังนั้นจึงคาดว่า Streptomyces ที่ไม่ทราบชนิดเหล่านี้ไม่จัดอยู่ในกลุ่ม Streptomyces

ที่ทราบชนิดทั้ง 5 ชนิดที่นำมาใช้ในการวิจัยนี้ แต่ถ้าจำนวนสายพันธุ์มาตรฐานที่นำมาศึกษามากกว่านี้ก็จะสามารถจำแนกและจัดหมวดหมู่ Streptomyces ที่ไม่ทราบชนิดได้

ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

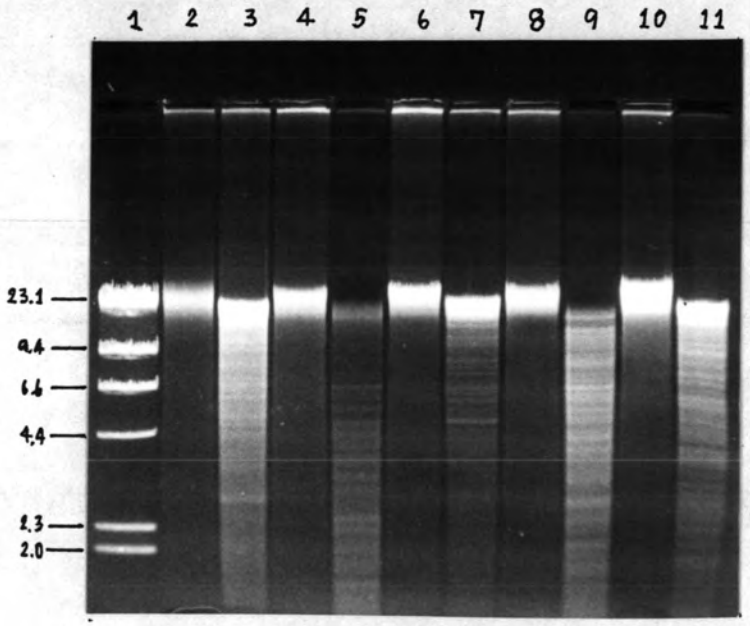
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI

รูปที่ 9ก รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

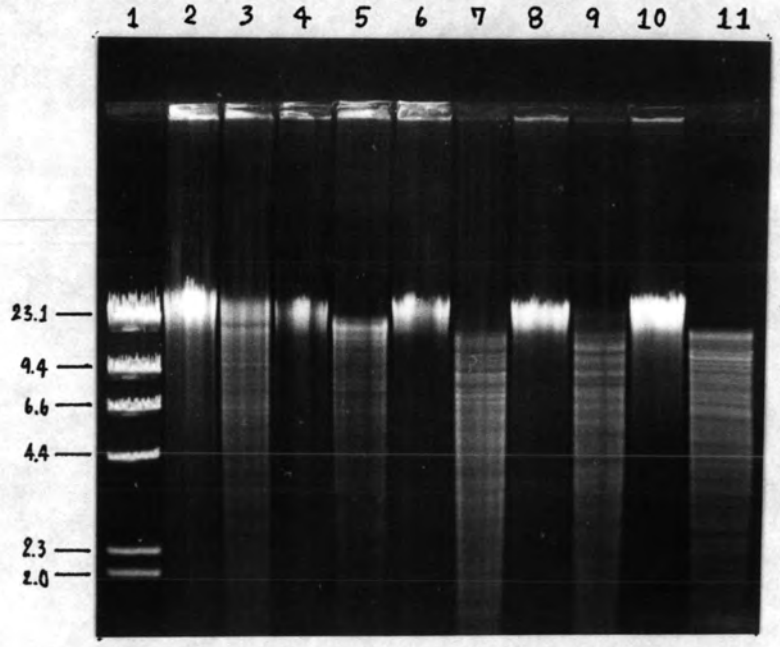
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI

รูปที่ 9ข รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

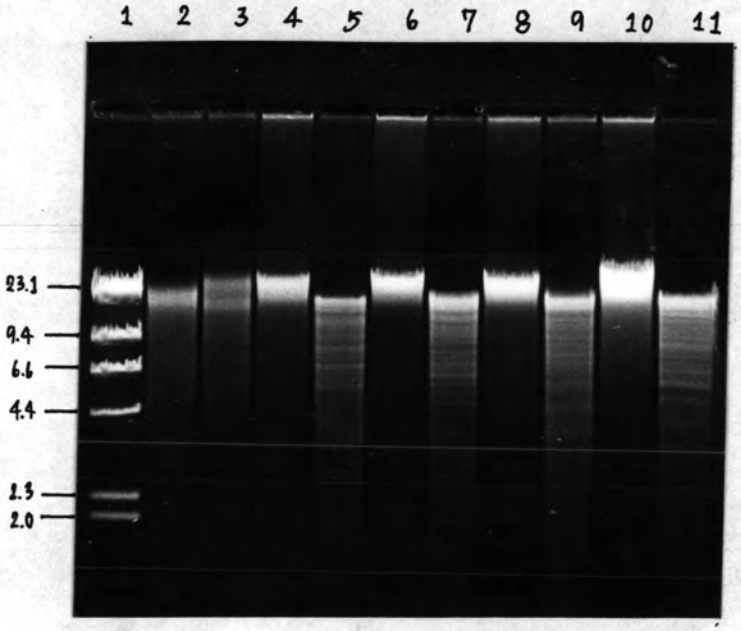
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10 ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII

รูปที่ 9ค รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม.ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ช่องที่ 1 λ/Hind III

2 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13

3 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

4 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13

5 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 1-13
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

6 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5

7 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 43-5
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

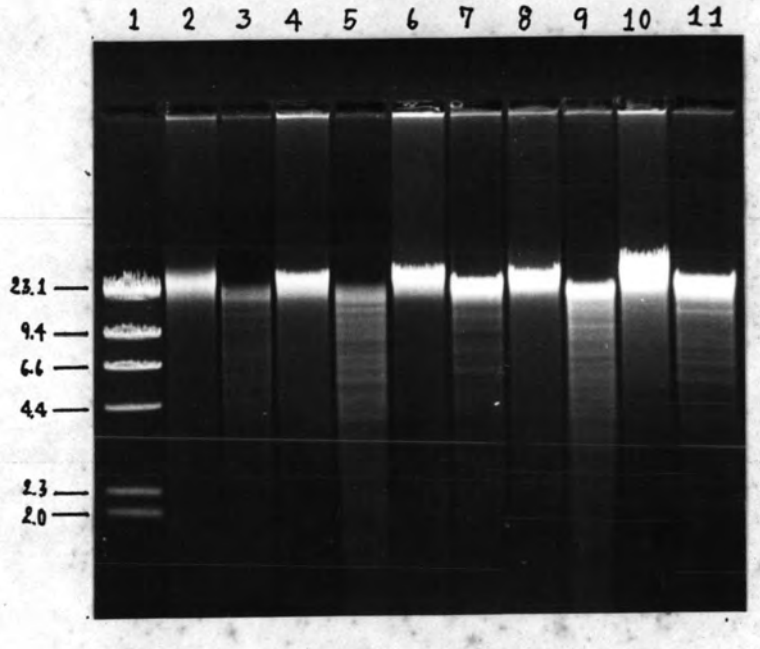
8 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5

9 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-5
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

10 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10

11 โครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 10
ตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI

รูปที่ 9ง รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI 6 หน่วย/ไมโครกรัมดีเอนเอ โดยทำอิเลกโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์ 14 โวลต์/ซม. ของความยาวเจล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7% และมีความยาว 7 ซม. โดยแต่ละช่องมีดีเอนเอ 330 นาโนกรัม



ตารางที่ 6ก ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ PstI (จากรูปที่ 9ก)

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป (kb)	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb (kb)
Streptomyces sp. 50-13	-	9.4 8.8 6.0 4.9 4.6 3.8 3.6 2.75
Streptomyces sp. 1-13	16.0	6.6 5.4 4.9 3.2 2.8 2.4
Streptomyces sp. 43-5	11.5 10.5	9.0 8.2 7.6 6.6 5.8 5.0
Streptomyces sp. 50-5	17.5 16.0 13.5 12.0	9.4 8.4 6.8 6.6 5.4 5.2
Streptomyces sp. 10	10.5	9.4 9.0 7.6 7.0 6.0 5.6

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว

ตารางที่ 6ข ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BamHI (จากรูปที่ 9ข)

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป (kb)	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb (kb)
Streptomyces sp. 50-13	19.0	9.0 6.2
Streptomyces sp. 1-13	17.0 14.0 13.0	7.4
Streptomyces sp. 43-5	11.2 10.0	8.4 8.0 7.4 7.2 7.0
Streptomyces sp. 50-5	12.0 10.5	8.8 8.4 8.0 7.4
Streptomyces sp. 10	15.5 10.5 10.0	9.4 9.0 8.8

ตารางที่ 6ค ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ BglII (จากรูปที่ 9ค)

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป (kb)	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb (kb)
Streptomyces sp. 50-13	25.0 15.5 12.0	8.6
Streptomyces sp. 1-13	17.0 13.5 12.0	8.2 7.0 5.8
Streptomyces sp. 43-5	12.5 10.5	9.4 8.6 7.0 6.4
Streptomyces sp. 50-5	12.5	9.4 7.6 6.2 5.8
Streptomyces sp. 10	13.0	9.4 8.6 6.2 5.4

ตารางที่ 6ง ขนาดของชิ้นส่วนโครโมโซมอลดีเอนเอของ Streptomyces sp. 50-13 Streptomyces sp. 1-13 Streptomyces sp. 43-5 Streptomyces sp. 50-5 และ Streptomyces sp. 10 ภายหลังการตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ EcoRI (จากรูปที่ 9ง) .

เชื้อ	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาด 10 kb ขึ้นไป (kb)	ขนาดชิ้นส่วนที่ปรากฏเด่นชัดของโครโมโซมอลดีเอนเอที่มีขนาดต่ำกว่า 10 kb (kb)
Streptomyces sp. 50-13	12.0 10.0	7.0
Streptomyces sp. 1-13	12.5	9.0 8.2 6.5 6.0 5.2
Streptomyces sp. 43-5	11.0	8.2 7.0 4.1
Streptomyces sp. 50-5	-	9.0 5.8
Streptomyces sp. 10	11.0	7.0 6.4 5.8 5.2

เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบชิ้นส่วนขนาดดังกล่าว