# รายการอ้างอิง

## ภาษาไทย


กรรณิการ์ ควงมาลย์. 2538. การผลิตบีตาไซโลสิเดสโดย *Streptomyces* sp. ในขวดเขย่า. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กอบเดช วาณิชวโรฒม์. 2540. การหาน้ำหนักโมเลกุลของบีตา-ไซโลสิเดสจาก *Streptomyces* sp.CH7 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีบนเซฟาเดกซ์ จี-200. Senior project. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชุมาลี อึ้งใจธรรม. 2539. ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสจาก *Streptomyces* spp. ที่ชอบร้อนและชอบด่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.


## ภาษาอังกฤษ


Avgustin, G., Flint, H. J. and Whitehead, T.R. 1992. Distribution of xylanase genes and enzymes among strains of *Prevotella (Bacteroides) ruminicola* from the rumen. FEMS. Microbiol. Lett. 99: 137-144.

Baba, T., Shinke, R. and Nanmori, T. 1994. Identification and characterization of clustered genes for thermostable xylan-degrading enzymes, β-xylosidase and xylanase, of *Bacillus stearothermophilus* 21. Appl. Environ. Microbiol. 60(7): 2252-2258.

Bachem, S., Faires, N. and Stulke, J.1997. Characterization of the presumptive phosphorylation sites of the *Bacillus subtilis* glucose permease by site-directed mutagenesis : implication in glucose transport and catabolic repression. FEMS. Microbiol. Lett. 156: 233-238.

Bachmann, S. L., and McCarthy, A. L. 1989. Purification and characterization of a thermostable β-xylosidase from *Thermomonospora fusca*. J. Gen. Microbiol. 35: 293-299.

Bachmann, S. L. and McCarthy, A. I. 1991. Purification and cooperation activity of enzymes constituting the xylan-degrading system of *Thermomonospora fusca*. Appl. Environ. Microbiol. 57(8) : 2121-2130.

Bhalerao, J., Patki, A.H., Bhave, M., Khurana, I. And Deobagkar, D. N. 1990. Molecular cloning and expression of a xylanase gene from *Cellulomonas* sp. into *Escherichia coli*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 34 : 71-76.

Biely, P.1985. Microbial xylanolytic systems. Trends Biotechnol. 3(11): 286-290.

Biely, P. and Poutanen, K. 1989. Production of xylanolytic enzymes by strains of *Aspergillus*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 40:224-229.

Biely, P., Vrsanska, M. and Kratky, Z. 1980. Xylan degrading enzymes of the yeast *Cryptococcus albidus*, identification and cellular localization. Eur. J. Biochem. 108:313-321.

Binnie, C., Jenish, D., Cossar, D., Szabo, A., Trudeau, D., Krygsman, P., Malek, L. T. and Stewart D. I. 1997. Expression and characterization of soluble human erythropoietin receptor made in *Streptomyces lividans* 66 . Protein Expr. Purif. 11 (3):271-8.

Bio-Rad Laboratory, 1993. Methods in Electroporation. Life Science Group: Bio-Rad Laboratories, Inc.

Birch, A. W. and Cullum, J. 1985. Temperative-sensitive mutant of the *Streptomyces* plasmid pIJ702. J. Gen. Microbiol. 131:1299-1303.

Buttner, M. J. 1989. RNA-polymerase heterogeneity in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Mol. Microbiol. 3(11): 1653-1659.

Chaillou, S., Lokman, B. C., Leer, R. L., Posthuma, C., Postma, P. W. and Pouwels, P. H. 1998. Cloning sequence analysis, and characterization of the genes involved in isoprimeverose metabolism in *Lactobacillus pentosus*. J. Bacteriol. 180(9): 2312-2320.

Claeyssens, M., Loontiens, F. G., Kersters-Hilderson, H. and De Bruyne, C. K. 1970. Partial purification and properties of an *Aspergillus niger* β-D-xylosidase. Enzymologia. 40(3):177-198.

Copa-Patino, J. L., Kim, Y. G., and Broda, P. 1993. Production and initial characterization of the xylan-degrading system of *Phanerochate chrysosporium*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 40 :69-76.

Coughlan, M. P. and Hazlewood, G. P.1993. β-1,4-D-xylan degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. Biotechnol.Appl.Biochem. 17: 259-289.

Dahlberg, L., Holst, O. and Kristjanson. J. K. 1993. Thermostable xylanolytic enzymes from *Rhodothermus marinus* grown on xylan. Appl. Microbiol. Biotechnol. 40:63-68.

Dekker, R. F. H.1983. Bioconversion of Hemicellulose: Aspects of hemicellulase production by *Trichoderma reesei* QM 9414 and enzymatic saccharification of hemicellulose. Biotechnol. Bioeng. 15: 1127-1146.

Dekker, R. F. H. 1989. Biodegradation of the hetero-1,4-linked xylans. ACS Symp. Ser. 399:619-629.

Deleyn, F., Claeyssen, M., and De Bruyne, C. K. 1978. β-D-xylosidase from *Penicillium wortmanni*. Meth. Enzymol. 83:639-644.

Deng, Z., Kieser, T. and Hopwood, D. A. 1986. Expression of a *Streptomyces* plasmid promoter in *Escherichia coli*. Gene. 43:295-300.

Desphande, V., Lachke, A., Mishra, C. ,Keshar, S., and Roat, M. 1985. Mode of action and properties of xylanase and β-xylosidase from *Neurospora crassa*. Biotechnol. Bioeng. 28: 1832-1837.

Dobberstein, J., and Emeis, C. C. 1991. Purification and characterization of β-xylosidase from *Aureobasidium pullulans*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35:210-215.

Eom, S. J., Kim, S. G. C. and Choi, Y. J. 1995. Molecular cloning and expression of the α-L-arabinofuranosidase gene of *Bacillus stearothermophilus* in *Escherichia coli*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 22:608-613.

Flint, H. J., McPherson, C. A. and Martin, J. 1991. Expression of two xylanase gene from the rumen cellulolytic bacterium *Ruminococcus flavefaciens* 17 cloned in pUC13. J.Gen. Microbiol. 137: 123-129.

Flores, M. E., Perez, R. and Huitron, C.1997. β-xylosidase and xylanases characterization and production by *Streptomyces* sp. CH-M-1035. Lett. in Appl. Microbiol. 24: 410-416.

Forsman, M. and Jaurin, B. 1987. Chromogenic identification of promoters in *Streptomyces lividans* by using an *ampC* β-lactamase promoter-probe vector. Mol. Gen. Genet. 210:23-32.

Fukumura, M., Sakka, K., Shimada, K. and Ohmiya, K. 1995. Nucleotide sequence of the *Clostridium stercorarium xynB* gene encoding an extremely thermostable xylanase, and characterization of the translated product. Biosci. Biotech. Biochem. 59(1):40-46.

Ghosh, B. S., and Kunda, A. B. 1980. Induction of cellulases and hemicellulase by Tamarin (*Tamarindus indica*) kernel polysaccharide. J. Ferment. Tech. 58(2): 135-141.

Gomes , D. J., Gomes, J., and Steiner , W. 1994. Production of highly thermostable xylanase by a wild strain of thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus* and partial characterization of the enzyme. J. Biotechnol. 37: 11-12.

Gomes, D. J., Gomes, J. , Kreiner, W., Esterbaver, H., Sinner, M., and Steiner, W. 1993. Production of high level of cellulase-free and thermostable xylanase by a wild strain of *Thermomyces lanuginosus* using birchwood xylan. J. Bacteriol. 30:283-297.

Herrmann, M. C., Vrsanska, M., Jurickova, M., Hirsch, J., Biely, P. and Kubicek, C. P. 1997. The β-D-xylosidase of *Trichoderma reesei* is a multifunctional β-D-xylan xylohydrolase. Biochem. J. 321: 375-381.

Hindle, Z., Callis, R., Dowden, S., Rudd, B. A. M. and Baumberg, S. 1994. Cloning and expression in *Escherchia coli* of a *Streptomyces coelicolor* A3(2) *argCJB* gene cluster. Microbiol. 140: 311-320.

Hopwood, D. A., Bibb, M. J., Chater, K. F., Kieser, T., Bruton, C. J., Kieser, H. M., Lydiate, D. J., Smith, C. P., Ward, J.M., and Schrempf, H. 1985. Genetic Manipulation of *Streptomyces* sp.: A Laboratory Manual. The John Innes Foundation, Norwich, UK.

John, M., Schmidt, B., and Schmidt, J. 1979. Purification and some properties of five endo-1,4-β-D-xylosidase and a β-D-xylosidase produced by a strain of *Aspergillus niger*. Can. J. Biochem. 57: 125-135.

Karlsson, E. N., Bartonek-Roxa, E. and Holst, O. 1997. Cloning and sequence of a thermostable multidomain xylanase from the bacterium *Rhodothermus marinus*. Biochimi. et Biophys. Acta 1353: 118-124.

Kersters-Hilderson, H., Loentiens, F. G., Claeyssens, M. and De Bruyne, C. K. 1969. Partial purification and properties of and induced β-D-xylosidase of *Bacillus pumilus* 12. Eur. J. Biochem. 7: 434-441.

Kitpreechavanich, V., Hyashi, M., and Nagai, S. 1986. Purification and characterization of extracellular β-glucosidase from *Aspergillus fumigatus*. Agric. Biol. Chem. 50 (7):1703-1711.

Kluepfel, D., Shareck, F., Mondou, F., and Morosoli, R. 1986. Characterization of cellulase and xylanase activities of *Streptomyces lividans*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24: 230-234.

Komelink, F. J. M., Leeuwen, M. S., Wood, T. M., and Voragen, A. G. J. 1993. Purification and characterization of three endo-(1,4)-β-xylanase and β-xylosidase from *Aspergillus awamori*. J. Biotechnol. 27: 249-265.

Kurakake, M., Osada, S. and Komaki, T. 1997. Transxylosilation of β-xylosidase from *Aspergillus awamori* K4. Biosci. Biotech. Biochem. 61(12): 2010-2014.

Lee, F. S. and Forsberg, F. S. 1987. Isolation and some properties of β-D-xylosidase from *Clostridium acetobutyricum* ATCC824. Agric. Biol. Chem. 54(4): 651-654.

Lee, Y. E. and Zeikus, J. G. 1993. Genetic organization, sequence and biochemical characterization of recombinant β-xylosidase from *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* strain B6A-RI. J. Gen Microbiol. 139: 1235-1243.

Lindner, C., Stulket, J., and Hecker, M. 1994. Regulation of xylanolytic enzymes in *Bacillus subtilis* . Microbiol. 140 :753-757.

Lorenz, W. W. and Wiegel, J. 1997. Isolation, analysis, and expression of two genes from *Thermoanaerobacterium* sp. strain JW/SL YS485: a β-xylosidase and a novel acetyl xylan esterase with cephalosporin C deacetylase activity. J. Bacteriol. 179 (17): 5436-5441.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-272.

Maniatis, T., Fritsch, E. F. and Sambrook, J. 1982. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.

Matsuo, M., and Yasui, T. 1984a. Purification and some properties of β-xylosidase from *Emericella nidulans*. Agric. Biol. Chem. 47(7):1853-1860.

Matsuo, M. and Yasui, T. 1984b. Purification and some properties of β-xylosidase from *Trichoderma viride*. Agric. Biol.Chem. 48(7): 1845-1852.

Matsuo, M. Fujie, A., Win, M., and Yasui, T. 1987. Four types of β-xylosidase from *Penicillium wortmanni* IFO 7237. Agric. Biol. Chem. 51(9): 2367-2379.

Nakanishi, K., Yokotsuka, K., and Yasui, T. 1987. Induction of membrane bound xylosidase in *Streptomyces* sp. J. Ferment. Technol. 65(1):1-6.

Nanmori, T., Watanabe, T., Shinke, R., Khno, A., and Kawamura, Y. 1990. Purification and properties of thermostable xylanse and β-xylosidase produced by a newly isolated *Bacillus stearothermophillus* strain. J. Bacteriol. 172(12): 6669-6672.

Panbangred, W., Kondo, T., Negoro, S., Shinmyo, A. and Okada, H. 1983. Molecular cloning of the genes for xylan degradation of *Bacillus pumilus* and their expression in *Escherichia coli*. Mol .Gen. Genet. 192 : 335-341.

Parisi, F. 1989. Advances in cellulosic hydrolysis and in the utilization of hydrolysates. In Fiecher, A. (ed.). Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. Vol. 38, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, p. 53-87.

Paturan, J. M. 1989. "Bagass" By-Products of the cane sugar industry. Vol 11. Elsevier Science Publisher. New York. USA.

Perez-Avalos, O., Ponce-Noyola, T., Magana-Plaza, I. and De la Torre, M. 1996. Induction of xylanase and β-xylosidase in *Cellulomonas flavigena* growing on different carbon sources. Appl. Microbiol. Biotechnol. 46: 405-409.

Perez-Gonzalez, J. A., Van Peij, N. N. M. E., Bezoen, A., MacCabe, A. P., Ramon, D. and De Graaff, L. H. 1998. Molecular cloning and transcriptional regulation of the *Aspergillus nidulans xlnD* gene encoding a β-xylosidase. Appl. Environ. Microbiol. 64(4): 1412-1419.

Poutanen, K., and Puls, J. 1988. Characteristics of *Trichoderma reesei* β-xylosidase and its use in the hydrolysis of solubilized xylans. Appl. Microbiol.Biotechnol. 28: 425-432.

Rapp, P., and Wagner, F. 1986. Production and properties of xylan-degrading enzymes from *Cellulomonas uda*. Appl. Environ. Microbiol. 51(4): 746-752.

Ratto, M., Mahrani, I. M., Ahring, B., and Viikari, L. 1992. Production of xylanolytic enzymes by alkalotolerant *Bacillus circulans* strain. Appl. Microbiol. Technol. 37: 470-473.

Ristroph, D.L., and Humphreyt, A. E. 1985. The β-xylosidase of *Thermomonospora fusca* Biotechnol. Bioeng. 27: 909-913.

Rodionova, N. A., Tavbilov, I. M., and Bezborodov, A. M. 1983. β-xylosidase from *Aspergillus niger* 15: purification and properties. J. Appl. Biochem. 5: 300-312.

Ross, N. W., Johnson, K. G., Braun, C., Mackenzie, C. R., and Schneider, H. 1992. Enzymatic hydrolysis of water-soluble lignin carbohydrate complexs from *Populus deltoides* effects of combination of β-mannanase, xylanase and acetyl xylan esterase. Enzyme and Microbial Technol. 14(2): 90-95.

Ruiz-Arribas, A., Fernandez-Abalos, J. M., Sanchez, P., Garda, A. L. and Santamaria, R.I.1995. Overproduction, purification, and biochemical characterization of a xylanase (Xys1) from *Streptomyces halstedii* JM8. Appl. Environ. Microbiol. 61 (6): 2414-2419.

Sakka, K., Kojima, Y., Yoshikawa, K. and Shimada, K. 1990. Cloning and expression in *Escherichia coli* of *Clostridium stercorarium* strain F-9 genes related to xylan hydrolysis. Agric. Biol. Chem. 54(2): 337-342.

Sakka, K., Yoshikawa, K., Kojima, Y., Karita, S., Ohmiya, K. and Shimada, K. 1993. Nucleotide sequence of the *Clostridium stercorarium xylA*. gene encoding a bifunctional protein with β-D-xylosidase and α-L-arabinofuranosidase activities, and properties of the translated product. Biosci. Biotech. Biochem. 57 (2): 268-272.

Sambrook, J., Fritch, E. F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Habor, New York.

Saraswat, V. and Bisaria, V. S. 1997. Biosynthesis of xylanolytic and xylan-debranching enzymes in *Melanocarpus albomyces* IIS 68. J. Ferment. Bioeng. 83(4):352-357.

Shao, W., and Wiegel, J. 1992. Purification and characterization of a thermostable β-xylosidase from *Thermoanaerobacter ethanolicus*. J. Bacteriol. 174(18): 5848-5853.

Singh, A., Kuhad, R. C. and Kumar, M. 1995. Xylanase production by a hyperxylanolytic mutant of *Fusarium oxysporum*. Enzyme Microb. Technol. 17: 551-553.

Smith, D. C., and Forsberg, C. W. 1991. α-Glucuronidase and other hemicellulase activities of *Fibrobacter succinogenes* S 85 grown on crystalline cellulose or ball-milled barley straw. Appl. Environ. Microbiol. 57(12): 3552-3557.

Smith, D. C., and Wood, T. M. 1991a. Isolation of mutants of *Aspergillus awamori* with enhanced production of extracellular xylanase and β-xylosidase. World. J. Microbiol. Biotechnol. 7: 343-354.

Smith, D. C. and Wood, T. M. 1991b. Xylanase production by *Aspergillus awamori* development of a medium and optimization of the fermentation parameters for the production of extracellular xylanases and β-xylosidase while maintaining low protease production. Biotechnol. Bioeng. 38(3): 883-890.

Suh, J. H., Eom, S. J., Cho, S. G. and Choi, Y. J. 1996. Molecular cloning and expression of the β-xylosidase gene (*xylB*) of *Bacillus stearothermophilus* in *Escherichia coli*. J. Microbiol. Biotechnol. 6(5): 331-335.

Sunna, A. and Antranikian , G. 1997. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. Crit. Rev. in Biotechnol. 17(1):39-67.

Tenkanen, M., Luonteri, E. and Teleman, A. 1996. Effect of side groups on the action of β-xylosidase from *Trichoderma reesei* against substituted xylo-oligosaccharides. FEBS Lett. 399 : 303-306.

Tenkanen, M., Puls, J., Ratto, M., and Viikari, L. 1993. Enzymatic deacetylation of galacto-glucomannans. Appl. Microbiol. Biotechnol. 39:159-165.

Takagaki, K., Kon, A., Kawasaki H., Hakamura, T., Tamura, S., and Endo, M. 1990. Isolation and characterization of *Patnopectin* sp. mid-gut gland endo β-xylosidase active on peptidochondrotinsulfate. J. Biol. Chem. 565(2): 845-860.

Tsao, G.T. and Chiang, L.1983. Cellullose and Hemicellulose Technology In Berry, S. D. R., and Kristianiansen, B.(eds.). The filamentous fungi: Fungal Technology. John Wiley and Sons Inc. New York. p.296-326.

Tuohy, M. G., Puls, J., Claeyssens, M., Vrsanska, M. and Coughlan, M. P. 1993. The xylan-degrading enzyme system of *Talaromyces emersonii*: novel enzyme with activity against aryl β-D-xylosides and unsubstituted xylans. Biochem J. 290: 515-523.

Utt, E. A., Eddy,C. K., Keshav, K.F., and Ingram, L. O. 1991. Sequencing and expression of the *Butyrivibrio fibrisolvens xylB* gene encoding novel bifunctional protein with β-D-xylosidase and α-L-arabinofuranosidase activities. Appl. Environ. Microbiol. 57(4): 1227-1234.

Uziie, M., Matsuo, M., and Yasui, T. 1985. Possible identity of β-xylosidase and α-glucosidase of *Chaetomium trilaterate*. Agric. Biol. Chem. 49(4): 1167-1173.

Viikari, L., Kantelinen, A., Ratto, M., and Sundquist, J. 1991. Enzyme in pulp and paper processing. In Leatham, G. G., and Himmel, M. E. (eds.) Enzyme in biomass conversions. U.S.A. p. 13-21.

Vincent, P., Shareck, F., Dupont, C., Morosoli, R. and Kluepfel, D. 1997. New α-L-arabinofuranosidase produced by *Streptomyces lividans*: cloning and DNA sequence of the *abfB* gene and characterization of the enzyme. Biochem J. 322: 845-852.

Visser, J., Beldman, G., Someren, M. A. K. V., and Voragen, A .G. J. 1992. Xylan and xylanase. Elsevier Science Publishers.Netherlands.

Vroemen, S., Heldens, J., Boyd, C., Henrissat, B. and Keen, N. T. 1995. Cloning and characterization of the *bgxA* gene from *Erwinia chrysanthemi* D1 which encodes a β-glucosidase/xylosidase enzyme. Mol. Gen. Genet. 246: 465-477.

Whitehead, T.R. 1995. Nucleotide sequence of xylan-inducible xylanases and xylosidase/ arabinosidase genes from *Bacteroides ovatus* V975. Biochim. et Biophys. Acta 1244 : 239-241.

Whitehead, T. R. and Hespell, R. B. 1990. The Genes for three xylan-degrading activities from *Bacteroides ovatus* are clustered in a 3.8-kilobase region. J. Bacteriol. 172(5): 2408-2412.

Wolfgang, H., Schwarz, H., Adelsberger, H., Jauris, S., Hertel, C., Funk, B., and Standenbauer, W. L. 1990. Xylan degrading thermophilic *Clostridium stercorarium* ; cloning and expression of xylanase, β-xylosidase and α-L-arabinofuranosidase genes in *Escherichia coli*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 33 (1-6): 68-373.

Wong, K. K. Y., Tan, L. U. L. and Saddler, J. N.1988. Multiplicity of β-1,4-D-xylanase in microorganism : Functions and applications. Microbiol. Rev. 52(3): 305-317.

Woodward, D J. 1987. Utilization of cellulose as a fermentation substrate : Problems and potential. In Stowell, J. D. Beardmore, A. J., Keevil, C. W. and Woodward, J. R. (eds.). Carbon Substrates in Biotechnology. Vol. 21, IRL Press, Qxford.

Xu, W., Shima, Y., Negoro, S. and Urabe, I.1991. Sequence and properties of β-xylosidase from *Bacillus pumilus* IPO: Contradiction of the previous nucleotide sequence. Eur. J. Biochem. 202: 1197-1203.

Yu, E. K. C, and Saddler, J. N. 1985. Biomass conversion to butanediol by simultaneous saccharification and fermentation. Trends in Biotechnol. 3(4): 100-104.

# ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก.

## อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. แมนนิทอล ซอยบีน อการ์ มีเดียม (Manitol Soy bean Agar Medium, MS medium)

| | | |
|---|---|---|
| แมนนิทอล (Manitol) | 20.0 | กรัม |
| ถั่วเขียวบดละเอียด | 20.0 | กรัม |
| วุ้นผง (Agar) | 18.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 500.0 | มิลลิลิตร |
| น้ำประปา | 500.0 | มิลลิลิตร |
| ปรับระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ | 7.0 | |
| นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

2. ทริพติค ซอย บรอท (Tryptic Soy Broth, TSB)

| | | |
|---|---|---|
| ทริพติค ซอย บรอท (Trytic Soy Broth) | 30.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000.0 | มิลลิลิตร |
| นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

3. ลูเรีย-เบอร์ทานี (Luria-Bertani, LB)

| | | |
|---|---|---|
| แบคโต-ทริปโตน (Bacto-Tryptone) | 10.0 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 5.0 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) | 5.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000.0 | มิลลิลิตร |
| นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

กรณีที่เป็นอาหารแข็ง ให้เติมวุ้นผง (Agar) 15.0 กรัม

กรณีที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *E. coli* ที่มีพลาสมิด pUC18, pUC19 หรือรีคอมบิแนนท์พลาสมิด หลังนึ่งฆ่าเชื้อให้เติมยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็งให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 50 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

กรณีที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับคัดเลือกโคลนให้เติม ให้เติมไซแลน (xylan from birchwood) 1 กรัม ลงในสูตรอาหารแข็ง และหลังจากอาหารแข็งแล้วให้ราดด้วย 4-เมทิลอัมเบลลิเฟอริล-7-เบตา-ดี-ไซโลไซด์ (4-methylumbelliferyl-7-β-D-xyloside) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปวางให้แห้งแบบปราศจากเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ แล้วจึงนำไปใช้

กรณีที่ใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์เพื่อวิเคราะห์แอคติวิตีให้เติมไซแลน 2 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว หลังนึ่งฆ่าเชื้อให้เติมยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 50 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข.

## สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์ TE ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0

สารละลายทริส-เบส (Tris-base)

| | | |
|---|---|---|
| ความเข้มข้นสุดท้าย | 10.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายอีดีทีเอ (EDTA) ความเข้มข้นสุดท้าย | 0.10 | มิลลิโมลาร์ |

ผสมองค์ประกอบทั้ง 2 เข้าด้วยกัน ปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้นจนได้ค่าความเป็นกรดด่างสุดท้ายเป็น 8.0 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

2. สารละลายบัฟเฟอร์ TAE ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 (ความเข้มข้น 50 เท่า)

| | | |
|---|---|---|
| ทริส-เบส | 202.00 | กรัม |
| กรดอะซิติกเข้มข้น | 57.10 | มิลลิลิตร |
| สารละลายอีดีทีเอความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ | 100.00 | มิลลิลิตร |

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

3. สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับหยุดปฏิกิริยาของ CIAP

สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์ (Tris-HCl)

| | | |
|---|---|---|
| ค่าความเป็นกรดด่าง 7.5 ความเข้มข้นสุดท้าย | 10.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายอีดีทีเอ ความเข้มข้นสุดท้าย | 1.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นสุดท้าย | 200.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) เข้มข้น | 0.50 | เปอร์เซ็นต์ |

4. สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5

สารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดอะซิติกให้ได้ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5

5. สารละลายไลโซไซม์ (lysozyme solution)

| | | |
|---|---|---|
| สารละลายซูโครสเข้มข้น | 10.30 | เปอร์เซ็นต์ |
| สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 | | |
| ความเข้มข้นสุดท้าย | 25.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายอีดีทีเอ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 | | |
| ความเข้มข้นสุดท้าย | 25.00 | มิลลิโมลาร์ |

6 สารละลายโปรเนส (pronase).

| | | |
|---|---|---|
| โปรเนส | 10.00 | มิลลิกรัม |
| น้ำกลั่น | 1.00 | มิลลิลิตร |

ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

7. สารละลายฟีนอล-คลอโรฟอร์ม

| | | |
|---|---|---|
| ฟีนอล (phenol) | 5.00 | กรัม |
| คลอโรฟอร์ม (chloroform) | 5.00 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.00 | มิลลิลิตร |
| 8-ไฮดรอกซีควิโนลีน (8-hydroxyquinoline) | 5.00 | มิลลิกรัม |

ละลายให้เข้ากันและเก็บไว้ในขวดสีชา

8. สารละลายฟีนอล-คลอโรฟอร์มที่อิ่มตัวในบัฟเฟอร์ TE

| | | |
|---|---|---|
| สารละลายบัฟเฟอร์ TE | 6.50 | มิลลิลิตร |
| สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 5 โมลาร์ | 0.19 | มิลลิลิตร |
| ฟีนอล (phenol) | 50.00 | กรัม |
| 8-ไฮดรอกซีควิโนลีน (8-hydroxyquinoline) | 0.05 | กรัม |

ละลายให้เข้ากันและเก็บไว้ในขวดสีชา

9. สารละลายเอทิเดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide)

| | | |
|---|---|---|
| เอทิเดียมโบรไมด์ | 5.00 | มิลลิกรัม |
| สารละลายบัฟเฟอร์ TAE ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 | 1.00 | มิลลิลิตร |

ละลายให้เข้ากันและเก็บไว้ในขวดสีชา

10. สารละลายสำหรับสกัดพลาสมิดหรือรีคอมบิแนนท์พลาสมิด

สารละลาย I (solution I)

| | | |
|---|---|---|
| สารละลายกลูโคส ความเข้มข้นสุดท้าย | 50.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 ความเข้มข้นสุดท้าย | 25.00 | มิลลิโมลาร์ |
| สารละลายอีดีทีเอ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 ความเข้มข้นสุดท้าย | 10.00 | มิลลิโมลาร์ |

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากันแล้วนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

สารละลาย II (solution II)

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

| | | |
|---|---|---|
| ความเข้มข้น 10 นอร์มอล | 0.20 | มิลลิลิตร |
| สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต(sodium dodecyl sulfate) | | |
| เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) | 1.00 | มิลลิลิตร |
| น้ำกลั่น | 8.80 | มิลลิลิตร |

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากันโดยเทคนิคปลอดเชื้อแล้วใช้ทันที

สารละลาย III (solution III)

สารละลายโปแตสเซียมอะซิเตท (potassium atetate)

| | | |
|---|---|---|
| ความเข้มข้น 5 โมลาร์ | 50.00 | มิลลิลิตร |
| กรดอะซิติกเข้มข้น | 11.50 | มิลลิลิตร |

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากันแล้วนึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

11. สีติดตาม

ชั่งลิโบรโมฟีนอลบลู 0.05 กรัม ละลายใน 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารละลายซูโครส 12 กรัมที่ละลายในน้ำกลั่น 17 มิลลิลิตร (นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน) และ สารละลายอีดีทีเอเข้มข้น 1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (นึ่งฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน) เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

12. สารละลายแอมพิซิลิน

| | | |
|---|---|---|
| สารละลายแอมพิซิลิน (ในรูปเกลือโซเดียม) | 50.00 | มิลลิกรัม |

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

13. สารละลาย 4-เมทิลอัมเบลลิเฟอริล-7-บีตา-ดี-ไซโลไซด์ (4-methylumbelliferyl-7-β-D-xyloside, MUX) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 7.0

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 7.0

สารละลาย A : โมโนเบสิค โซเดียม ฟอสเฟต (monobasic sodium phosphate)

เข้มข้น 0.20 โมลาร์

สารละลาย B : ไดเบสิค โซเดียม ฟอสเฟต (dibasic sodium phosphate)

เข้มข้น 0.20 โมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งสองเข้าด้วยกันในอัตราส่วนปริมาตรของสารละลาย A ต่อสารละลาย B เท่ากับ 39:61 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 200 มิลลิลิตร

ละลาย MUX 1 มิลลิกรัม ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

14. สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry (1951)

สารละลาย Lowry A

| | | |
|---|---|---|
| โซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) | 20.00 | กรัม |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) | 4.00 | กรัม |
| โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต (sodium potassium tartate) | 0.20 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000.00 | มิลลิลิตร |

สารละลาย Lowry B

| | | |
|---|---|---|
| คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) | 2.50 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 500.00 | มิลลิลิตร |

สารละลาย Lowry C

| | | |
|---|---|---|
| สารละลาย Lowry A | 50.00 | ส่วน |
| สารละลาย Lowry B | 1.00 | ส่วน |

ผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากันก่อนใช้

สารละลาย Lowry D

| | | |
|---|---|---|
| โฟลิน-ฟีนอล รีเอจนท์ (folin-phenol reagent) | 1.00 | ส่วน |
| น้ำกลั่น | 1.00 | ส่วน |

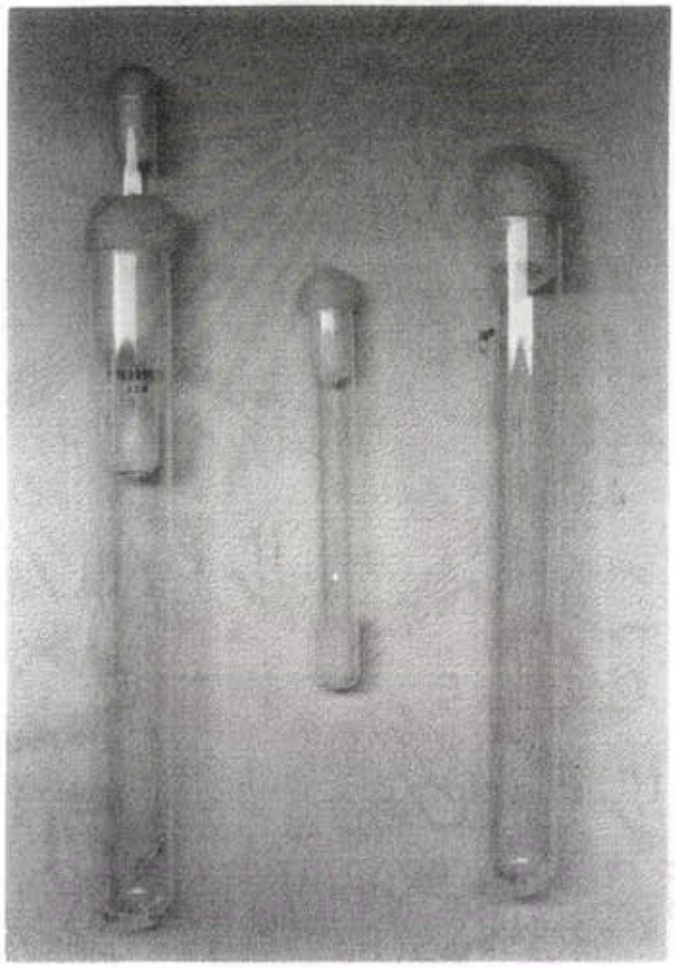
15. สารละลายพารา-ไนโตรฟีนิล-บีตา-ดี-ไซโลไพราโนไซด์ (*p*-nitrophenyl-β-D-xylopyranoside)

ละลายพารา-ไนโตรฟีนิล-บีตา-ดี-ไซโลไพราโนไซด์ ให้ได้ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ในอะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

## ภาคผนวก ค.

# อุปกรณ์อื่นๆ

1. ชุดกรองสปอร์ของ *Streptomyces* sp. CH7 (Hopwood et al., 1985)



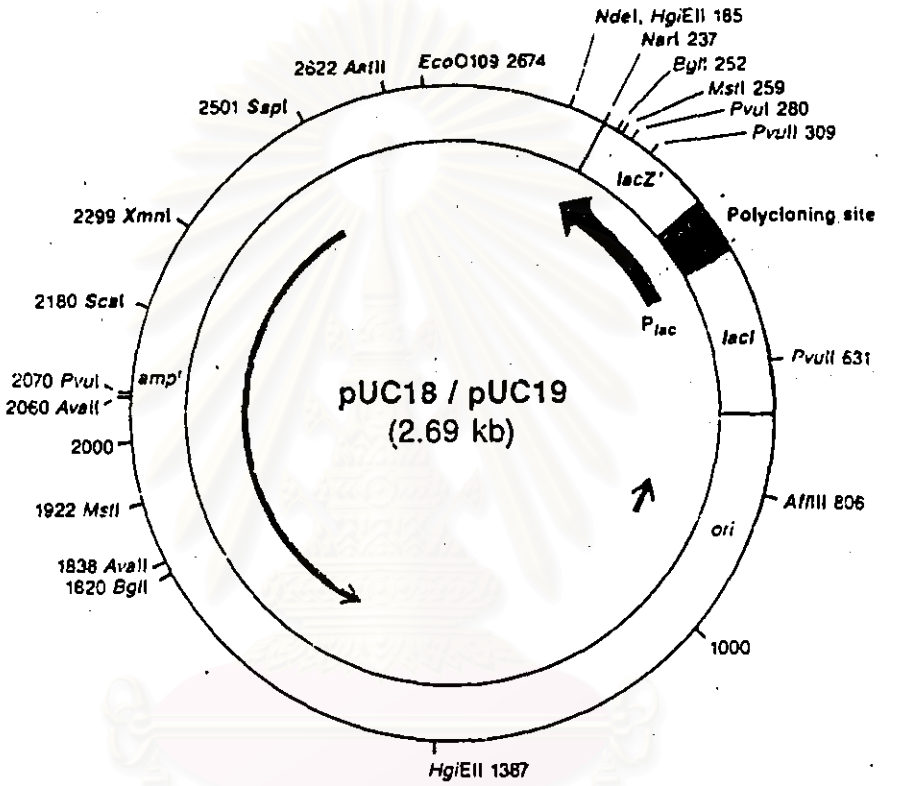
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ลักษณะการวางขดลวดสปริงที่กันขวดสำหรับเลี้ยง *Streptomyces* sp. CH7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ง.

### 1. รูปพลาสมิด pUC18/pUC19 (Sambrook et al., 1989)




**Polycloning Sites**

**pUC18**

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 7 | 8 |
| | Thr | Met | Ile | Thr | Asn | Ser | Ser | Ser | Val | Pro | Gly | Asp | Pro | Leu | Glu | Ser | Thr | Cys | Arg | His | Ala | Ser | Leu | Ala | Leu | Ala |
| ATG | ACC | ATG | ATT | ACG | AAT | TCG | AGC | TCG | GTA | CCC | GGG | GAT | CCT | CTA | GAG | TCG | ACC | TGC | AGG | CAT | GCA | AGC | TTG | GCA | CTG | GCC |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | *EcoRI* | | *SacI* | | *KpnI* | | *SmaI* *XmaI* | | *BamHI* | | *XbaI* | | *SalI* *AccI* *HincII* | | *PstI* | | *SphI* | | *HindIII* | | | |

**pUC19**

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | Thr | Met | Ile | Thr | Pro | Ser | Leu | His | Ala | Cys | Arg | Ser | Thr | Leu | Glu | Asp | Pro | Arg | Val | Pro | Ser | Ser | Asn | Ser | Leu | Ala |
| ATG | ACC | ATG | ATT | ACG | CCA | AGC | TTG | CAT | GCC | TGC | AGG | TCG | ACT | CTA | GAG | GAT | CCC | CGG | GTA | CCG | AGC | TCG | AAT | TCA | CTG | GCC |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | *HindIII* | | | *SpnI* | | *PstI* | | *SalI* *AccI* *HincII* | | *XbaI* | | *BamHI* | | *SmaI* *XmaI* | | *KpnI* | | *SacI* | | *EcoRI* | | |

In pUC18, the *Eco*RI site lies immediately downstream from $P_{lac}$.
In pUC19, the *Hin*dIII site lies immediately downstream from $P_{lac}$.

# ประวัติผู้เขียน

นางสาวจิราวรรณ ธนะ เกิดเมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ. 2516 ที่จังหวัดชลบุรี ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ในปีการศึกษา 2537 และเข้ารับการศึกษาต่อในขั้นปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2538

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย