รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ดวงกมล ธูปมงคล. 2546. ยีนประมวลรหัสไดออกซิจีเนสสำหรับการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนใน *Rhizobium* sp. CU-A1 วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ธัญนุช เกรียงไกรพิพัฒน์. 2544. การสร้างสายพันธุ์กลายที่สะสมสารมัธยันต์จากการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนและการติดฉลากด้วยโปรตีนเรืองแสงสีเขียวของ *Rhizobium* sp. CU-A1 วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศรัลยา แพงไตร. 2543. การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียที่ออกซิไดซ์อะซีแนพธิลีน วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สิริภัทร พฤกษ์ไพบูลย์. 2549. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนใน *Rhizobium* sp. CU-A1 วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

Annweiler, E., Richnow, H.H., Antranikian, G., Hebenbrock, S., Franke, S., Francke, W., and Michaelis, W. 2000. Naphthalene degradation and incorporation of naphthalene-derived carbon into biomass by the thermophile *Bacillus thermoleovorans*. Appl. Environ. Microbiol. 66: 518-523.

Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidan, J.G., Smith, J.A., and Struhl, K. 1999. Current Protocols in Molecular Biology. 4th ed. John Wiley &Sons, New York.

Bezalel, L., Hadar, Y., and Cerniglia, C.E. 1997. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol. 63(7): 2495-2501.

Bezalel, L., Hadar, Y., Fu, P.P., Freeman, J.P., and Cerniglia, C.E. 1996. Metabolism of phenanthrene by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol. 62: 2547-2553.

Bosch, R., Garcia-Valdes, E., and Moore, E. R. B. 1999. Genetic characterization and evolutionary implications of a chromosomally encoded naphthalene-degradation upper pathway from *Pseudomonas stutzeri* AN10. Gene. 236: 149-157.

Bumpus, J.A., Tien, M., Wright, D., and Aust, S.D. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. Science. 228: 1434-1436.

Cerniglia, C. E. 1984. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Adv. Appl. Microbiol. 30: 31-71.

Cerniglia, C. E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation. 3: 351-368.

Cerniglia, C.E. 1997. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Past, present and future applications in bioremediation. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 19: 324-333.

Cerniglia, C.E., White, G.L., and Heflich, R.H. 1985. Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons. Arch. Microbiol. 143: 105-110.

Chapman, P.J., 1979. Degradation mechanism. In Proceeding of the workshop: microbial degradation of pollutants in marine environmental. U.S. Environmental Protection Agency. pp. 28-66. Bourquin. A. W. and Pritchard, P.H. (ed.) Gulf Breeze.

Correll, C.C., Batie, C.J., Ballou, D.P., and Ludwig, M.L. 1992. Phthalate dioxygenase reductase: a modular structure for electron transfer from pyridine nucleotides to [2Fe-2S]. Science. 258: 1604-1610.

Davies, J. I., and Evans, W. C. 1964. Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads: The ring-fission mechanism. J. Biochem. 91: 251-261.

Dean-Raymond, D., and Bartha, R. 1975. Biodegradation of some polynuclear aromatic petroleum components by marine bacteria. Dev. Ind. Microbiol. 16: 97-110.

Dean-Ross, D., and Cerniglia, C.E. 1996. Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 46: 307-312

Denome, S. A., Stanley, D. C., Olson, E. S., and Young, K. D. 1993. Metabolism of dibenzothiophene and naphthalene in *Pseudomonas* strains: complete DNA sequence of an upper naphthalene catabolic pathway. J. Bacteriol. 175: 6890-6901.

Dunn, N.W., and Gunsalus, L.C. 1973. Transmissible plasmid coding early enzymes of naphthalene oxidation in *Pseudomonas putida*. J. Bacteriol. 114(3): 974-979.

Ensley, B.D., and Gibson, D.T. 1983. Naphthalene dioxygenase: Purification and properties of a terminal oxygenase component. J. Bacteriol. 155: 505-511.

Ensley, B.D., Gibson, D.T., and Laborde, A.L. 1982. Oxidation of naphthalene by a multicomponent enzyme system from *Pseudomonas* sp. Strain NCIB 9816. J. Bacteriol. 149: 948-954.

Evans, W. C., Fernley, H.N., and Griffiths, E. 1965. Oxidative metabolism of phenenthrene and anthracene by soil pseudomonads. The ring fission mechanism. J. Biochem. 95(3): 819-831.

Gescher, J., Zaar, A., Mohamed, M., Schagger, H., and Fuchs, G. 2002. Genes coding for a new pathway of aerobic benzoate metabolism in *Azoarcus evansii*. J. Bacteriol. 184(22): 6301-6315.

Goyal, A. K., and Zylstra, G. J. 1996. Molecular cloning of novel genes for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation from *Comamonas testosteroni* GZ39. Appl. Environ. Microbiol. 62: 230-236.

Graham-Lorence, D., and Peterson, J.A. 1996. P450s:structural similarities and functional differences. J. FASEB. 10: 206-214.

Grifoll, M., Selifonov, S. A., and Chapman, P. J. 1994. Evidence for a novel pathway in the degradation of fluorine by *Pseudomonas* sp. strain F247. Appl. Environ. Microbiol. 60(7): 2438-2449.

Grifoll, M., Selifonov, S. A., Gatlin, C. V., and Chapman, P. J. 1995. Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3711-3723.

Grund, E., Denecke, B., and Eichenlaub, R. 1992. Naphthalene degradation via salicylate and gentisate by *Rhodococcus* sp. strain B4. Appl. Environ. Microbiol. 58:1874-1877.

Hammel, K.E., Gai, W.Z., Green, B., and Moen, M.A. 1992. Oxidative degradation of phenanthrene by the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium.* Appl. Environ. Microbiol. 58: 1832-1838.

Hanahan, D. 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmid. J. Mol. Biol. 166: 557-580.

Harwood, C.S., Nichols, N.N., Kim, M., Ditty, J.L., and Parales, R.E. 1994. Identification of the *pcaRFK* gene cluster from *Pseudomonas putida*: involvement in chemotaxis, biodegradation, and transport of 4-hydroxybenzoate. J. Bacteriol. 176(21): 6479-6488.

Harwoods, C.S., and Parales, R.E. 1996. The beta-ketoadipate pathway and the biology of self-identity. Annu. Rev. Microbiol. 50: 553-590.

Heitkamp, M.A., and Cerniglia, C.E. 1989. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Mycobacterium* sp. in microcosms containing sediment and water from pristine ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1968-1973.

Hopkins, R.P., Brook, C. J. W., and Young, L. 1962. Biochemicals studies of toxic agents. 13. The metabolism of acenaphthylene. Biochem. J. 82: 457-466.

Horn, J.M., Harayama, S., and Timmis, K.N. 1991. DNA sequence determination of the TOL plasmid (pWWO) *xylGFJ* genes of Pseudomonas putida: implications for the evolution of aromatic catabolism. Mol. Microbiol. 5: 2459-2474.

Houghton, J.E., and Shanley, M.S. 1994. Catabolic potential of pseudomonads: a regulatory perspective. In: Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals. pp. 11-32., Rasul Chaudhry, G. (ed.). London: Chapman and Hall.

Iwabuchi, T., and Harayama, S. 1997. Biochemical and genetic characterization of 2-carboxybenzaldehyde dehydrogenase, and enzyme involved in phenanthrene degradation by *Nocardioides* sp. strain KP7. J. Bacteriol. 179(20): 6488-6494.

Johannes, C., Majcherczyk, A., and Huttermann, A. 1998. Oxidation of acenaphthene and acenaphthylene by laccase of *Trametes versicolor* in a laccase-mediator system. J. Biotechnol. 61: 151-156.

John, T., and Cookson, J.R. 1995. Bioremediation engineering design and application. P.9. Cockson, J.R. (ed.). New York: McGraw-Hill.

Kasai, Y., Shindo, K., Harayama, S., and Misawa, N. 2003. Molecular characterization and substrate preference of a polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase from *Cycloclasticus* sp. strain A5. Appl. Environ. Microbiol. 69(11): 6688-6697.

Kasuga, K., Habe, H., Chung, J. S., Kasuga, K., Yoshida, T., Nojiri, H., and Omori, T. 2001. Isolation and characterization of the genes encoding a novel oxygenase component of angular dioxygenase from Gram-positive dibenzofuran-degrader *Terrabacter* sp. strain DBF63. Biochem. Biophys. Res. Commun. 283: 195-204.

Keith, L. H., and Telliard, W. A. 1979. Priority pollutants. I. A perspective view. Environ. Sci. Technol. 13: 416-423.

Kelley, I., Freeman, J.P., and Cerniglia, C.E. 1990. Identification of metabolites from degradation of naphthalene by *Mycobacterium* sp. Biodegradation. 1: 283-290.

Kelley, I., Freeman, J.P., Evans, F.E., and Cerniglia, C.E. 1993. Identification of metabolites from the degradation of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. strain PYR-1. Appl. Environ. Microbiol. 59: 800-806.

Khan, A. A., Wang, R. F., Cao, W. W., Doerge, D. R., Wennerstrom, D., and Cerniglia, C. E. 2001. Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of genes encoding a polycyclic aromatic ring dioxygenase from *Mycobacterium* sp. PYR-1. Appl. Environ. Microbiol. 67: 3577-3585.

Khan, A. A., Wang, R. F., Cao, W. W., Franklin, W., and Cerniglia, C.E. 1996. Reclassification of a polycyclic aromatic hydrocarbon metabolizing bacterium, *Beijerinckia* sp. strain B1, as *Sphingomonas yanoikuyae* by fatty acid analysis, protein pattern analysis, DNA-DNA hybridization, and 16S ribosomal DNA sequencing. Int. J. Syst. Bacteriol. 46: 466-469.

Kim, E., and Zylstra, G.J. 1995. Molecular and biochemical characterization of two meta-clevage dioxygenase involved in biphenyl and m-xylene degradation by *Beijerinckia* sp. strain B1. J. Bacteriol. 177: 3095-3103.

Komatsu, T., Omori, T., and Kodama, T. 1993. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene by a pure bacterial culture. Biosci. Biotech. Biochem. 57(5): 864-865.

Komatsu, T. 1994. Doctoral Thesis, The University of Tokyo.

Kouzuma, A., Pinyakong, O., Nojiri, H., Omori, T., Yamane, H., and Habe, H. 2006. Functional and transcription analyses of the initial oxygenase gene for acenaphthene degradation from *Sphingomonas* sp. strain A4. Microbiology. 152: 2455-2467.

Kurkela, S., Lehväslaiho, H., Palva, E. T., and Teeri, T. H. 1988. Cloning, nucleotide sequence and characterization of genes encoding naphthalene dioxygenase of *Pseudomonas putida* strain NCIB 9816. Gene. 73: 355-362.

Laurie, A. D., and Lloyd-Jones, G. 1999. The *phn* gene of *Burkholderia* sp. strain RP007 constitute a divergent gene cluster for polycyclic aromatic hydrocarbon catabolism. J. Bacteriol. 181(2): 531-540.

Lederer, W.H. 1985. Acenaphthylene. In: Regulatory Chemicals of Health and Environmental Concern. pp. 1. Lederer, W. H. (ed.). (n.p.): Van Nostrand Reinhold Company.

Lee, S., and Cutright, T.J. 1996. Nutrient medium for bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils. Environ. Sci. Technol. 14: 1524-1528.

Levin, L.A., Viale, A., and Forchuassin. 2003. Degradation of organic pollutants by the white rot basidiomycetes *Trametes trogii*. Inter. Biodete. Biodeg. 52:1-5.

Lewin, B. 1985. Genes II. pp. 31-33. John Wiley and Sons: New york.

Lisser, S. and Margalit, H. 1993. Compilation of *E. coli* mRNA promoter sequences. Nucleic acids Res. 21(7): 1507-1516.

Makovec, T., and Breskwar, K. 2000. Purification of cytochrome P450 from filamentous fungus *Rhyzopus nigricans*. J. Physiol. 439: 111–112.

Manahan, S.E. 1993. Reduction, treatment, and disposal of hazardous waste. In Fundamentals of environmental chemistry. pp. 687-720. , Manahan, S.E. (ed.). Lewis Publishers.

Masai, E., Momose, K., Hara, H., Nishikawa, S., Katayama, Y., and Fukuda, M. 2000. Genetic and biochemicals characterization of 4-carboxy-2-hydroxymuconate-6-semialdehyde dehydrogenase and its role in the protocatechuate 4,5-cleavage pathway in *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6. J. Bacteriol. 182(23): 6651-6658.

Michiei, S., Hamel, C., and Greer, C.W. 2004. Two distinct gene clusters encode pyrene degradation in *Mycobacterium* sp. Strain S65. FEMS Microbiol. Ecolo. 48: 209-220.

Mingot, J.M., Pefialvat, M.A., and Fernandez-Carfions, J.M. 1999. Disruption of *phacA*, an *Aspergillus nidulans* gene encoding a novel cytochrome P450 monooxygenase catalyzing phenylacetate 2-hydroxylation, result in penicillin overproduction. J. Biolo. Chem. 274(21): 14545-14550.

Mueller, J.G., Chapman, P.J., and Pritchard, P.H. 1989. Action of fluorine-utilizing bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote. Appl. Environ. Microbiol. 55: 3085-3090.

Neilson, A.H., and Allard, A.S. 1998. Microbiol metabolism of PAHs and heteroarenes. In: The handbook of environmental chemistry. pp., 1-64., Neilson, A. H. (ed.). Berlin: Springer-Verlag.

Nelson, D.R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J.J., Feyereisen, R., Waxman, D.J., Waterman, M.R., Gotoh, O., Coon, M.J., Estabrook, R.W., Gunsalus, I.C., and Nebert, D.W. 1996. P450 superfamily: update on new sequence, gene mapping, accession numbers and nomenclature. Pharmacogenetics. 6: 1-42.

Ohmoto, T., Sakai, K., Hamada, N., and Ohe, T. 1991. Salicylic acid metabolism through a gentisate pathway by *Pseudomonas* sp. TA-2. Agri. Biol. Chem. 55: 1733-1737.

Pinyakong, O., Habe, H., Kouzuma, A., Nojiri, H., Yamane, H., and Omori, T. 2004. Isolation and characterization of genes encoding polycyclic aromatic hydrocarbon dioxygenase from acenaphthene and acenaphthylene degrading *Sphingomonas* sp. strain A4. FEMS Microbiol. Lett. 238(2): 297-305.

Pinyakong, O., Habe, H., and Omori, T. 2003. The unique aromatic catabolic genes in sphingomonads degrading polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Gen. Appl. Microbiol. 49: 1-19.

Pinyakong, O., Habe, H., Supaka, N.,Pinpanichhkarn, Juntongjin, K., Yoshida, T., Furihata, K., Nojiri, H., Yamant, H., and Omori, T. 2000. Identification of novel metabolites in the degradation of phenanthrene by *Sphingomonas* sp. strain P2. FEMS Microbiol. Lett. 191(1): 115-121.

Poonthrigpun, S., Pattaragulwanit, K., Paengthai, S., Kriangkripipat, T., Juntongjin, K., Thaniyavarn, S., Petsom, A., and Pinphanichakarn, P. 2006. Novel intermediates of acenaphthylene degradation by *Rhizobium* sp. Strain CU-A1: Evidence for naphthalene-1,8-dicarboxylic acid metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 72(9): 6034-6039.

Prieto, M.A., Diaz, E., and Grcia, J.L. 1996. Molecular characterization of the 4-hydroxyphenylacetate catabolic pathway of *Escherichia coli* W: engineering a mobile aromatic degradative cluster. J. Bacteriol. 176(1): 111-120.

Rehmann, K., Herkorn, N., and Kettrup, A.A. 2001. Fluoranthene metabolism in *Mycobacterium* sp. strain KR20: identity of pathway intermediates durig degradation and growth. Microbiology. 147: 2738-2794.

Rehmann, K., Noll, H.T., Steinberg, C.E., and Kettrup, A.A. 1998. Pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KR2. Chemosphere. 36(14): 2977-2992.

Romine, M. F., Still Well, L. C., Wong, K. K., Thurston, S. J., Sisk, E. C., Sensen, C., Gaasterland, T., Fredrickson, J. K., and Saffer, J. D. 1999. Complete sequence of a 184-kilobase catabolic plasmid form *Sphingomonas aromaticivorans* F199. J. Bacteriol. 181(5): 1585-1602.

Saito, A., Iwabuchi, T., and Harayama, S. 2000. A novel phenanthrene dioxygenase from *Nocardioides* sp. KP7: expression in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 182: 2134-2141.

Sambrook, J., and Russell, D.W. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schell, M. A. 1983. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the naphthalene degradation genes from plasmid NAH7. J. Bacteriol. 153: 822-829.

Schocken, M. J., and Gibson, D. T. 1984. Bacterial oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene. Appl. Environ. Microbiol. 48(1): 10-16.

Selifonov, S. A., Slepenkin, A. V., Adanin, V. M., Grechkina, G. M., and Starovoitov, I. I. 1993. Acenaphthene catabolism by strains of *Alcaligenes eutrophus* and *Alcaligenes paradoxus*. Microbiology. 62: 85-92.

Selifonov, S. A., Grifoll, M., Eaton, R. W., and Chapman, P. J. 1996. Oxidation of naphthenoaromatic and methyl-substituted aromatic compounds by naphthalene 1,2-dioxygenase. Appl. Environ. Microbiol. 62(2): 507-514.

Shine, J. and Dalgarno, L. 1974. The 3'-terminal sequence of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA: complementarity to nonsense triplets and ribosome binding sites. Proc. Natl. Acad. Sci. 71: 1342-1346.

Simon, M. J., Osslund, T. D., Saunders, R., Ensley, B. D., Suggs, S., Harcourt, A., Suen, W., Cruden, D. L., Gibson, D. T., and Zylstra, G. J. 1993. Sequences of genes encoding naphthalene dioxygenase in *Pseudomonas putida* strains G7 and NCIB 9816-4. Gene. 127: 31-37.

Sparnins, V.L., and Chapman, P.J. 1996. Catabolism of L-tyrosine by the homoprotocatechuate pathway in Gram-positive bacteria. J. Bacteriol. 127(1): 362-366.

Starovoitov, K. 1975. Properties of salicylate-5-hydroxylase from *Moraxella osloensis*. J. Bacteriol. 121: 86-91.

Sutherland, J.B., Rafii, F., Khan, A.A., and Cerniglia, C.E. 1995. Mechanisms of PAHs degradation. In: Microbiol transformation and degradation of toxic organic chemicals. pp. 269-306. Young, L.Y. and Cerniglia, C.E. (ed.). Willey-Liss, Inc., New York.

Takizawa, N., Lida, T., Sawada, T., Yamauchi, K., Wang, Y-W., Fukuda, M., and Kiyohara, H. 1999. Nucleotide sequence and characterization of genes encoding naphthalene upper pathway of *Pseudomonas aeruginosa* PaK1 and *Pseudomonas putida* OUS82. J. Biosci. Bioeng. 87: 723-731.

Trenz, S.P., Engesser, K.H., Fischer, P., and Knackmuss, H.J. 1994. Degradation of fluorine by *Brevibacterium* sp. strain DPO13611: a novel C-C bond cleavage mechanism via 1,10-dihydro-11-10-dihydroxyfluorene-9-one. J. Bacteriol. 176: 789-795.

Volkering, F.A., Breure, A.M., Sterkenberge, A., and Van Andel, J.G. 1992. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons; effect of substrate availability on bacterial growth kinetics. Appl. Microbiol. Biotechnol. 36: 548-552.

Wilson, S.C., and Jones, K.C. 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. Environ. Pollut. 81: 229-249.

Yen, K. M., and Gunsalus, I. C. 1982. Plasmid gene organization: Naphthalene/salicylate oxidation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79: 874-878.

Yen, K. M., and Serdar, C. M. 1988. Genetics of naphthalene catabolism in *Pseudomonas*. Crit. Rev. Microbiol. 15: 247-268.

Zhou, N., Fuenmayor, S. L., and Williams, P.A. 2001. *nag* Genes of *Ralstonia* (formerly *Pseudomonas*) sp. strain U2 encoding enzymes for gentisate catabolism. J. Bacteriol. 183(2): 700-708.

Zylstra, G.J., and Kim, E. 1997. Aromatic hydrocarbon degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* B1. J. Indust. Microbiol. Biochemol. 19: 408-414.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB broth)** (Sambrook และ Russell, 2001)

ทริปโตน (tryptone)	10.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

2. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB agar)** (Sambrook และ Russell, 2001)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ละลายวุ้น 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

3. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2YT (2YT broth)** (Sambrook และ Russell, 2001)

ทริปโตน (tryptone)	16.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. กลีเซอรอล

นำกลีเซอรอลมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบหนึ่ง

2. สารปฏิชีวนะ

ละลายแอมพิซิลลิน 100 มิลลิกรัมในน้ำ 1 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองสารละลายผ่านชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซีเตทขนาดรูกว้าง 0.45 ไมโครเมตร เก็บรักษาไว้ในหลอดไมโครฟิวจ์ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ เมื่อนำมาใช้แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ ได้นาน 1 เดือน

3. ชุดสกัดพลาสมิดปริมาณน้อย QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Germany)

ประกอบด้วย

- Buffer P1
- Buffer P2
- Buffer N3
- Buffer PB
- Buffer PE
- Buffer EB
- Rnase A
- Collection tube
- QIAprep Spin colum

ก่อนใช้ชุดสกัดพลาสมิดครั้งแรกให้เติม RNase A ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน Buffer P1 และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ และเติมเอธานอลปริมาตร 24 มล. ลงใน Buffer PE

4. **ชุดสกัดดีเอ็นเอออกจากอะกาโรสเจล** QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany.)

ประกอบด้วย

buffer QG

Buffer PE

Buffer EB

Collection tube

QIAquick spin column

ทำตามวิธีที่ระบุโดยบริษัทผู้ผลิต

5. **สารละลาย 10%SDS**

ชั่ง sodium dodecyl sulfate น้ำหนัก 10 กรัม ค่อยๆ ละลายในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 ^{o}ซ ปริมาตร 80 มล. เมื่อละลายหมดเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที (หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อครั้งแรกแล้วจะไม่สามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำได้อีกเพราะสารละลาย SDS จะเสียสภาพ)

6. **Denaturation buffer**

โซเดียมไฮดรอกไซด์	0.5 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	1.5 โมลาร์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จนหมดแล้วจึงละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เติมน้ำน้ำปลอดประจุจนครบปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

7. Neutralization buffer

Trismabase	0.5 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	3.0 โมลาร์

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น เติมน้ำปลอดประจุจนครบปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

8. **สารละลาย 20XSSC**

โซเดียมคลอไรด์	3.0 โมลาร์
โซเดียมอะซีเตต (CH_3COONa)	0.3 โมลาร์

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

9. **สารละลาย 2XSSC/0.1%SDS**

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 10 มล. ในน้ำปลอดประจุ 89 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 10%SDS ปริมาตร 1 มล. ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

10. **สารละลาย 0.5XSSC/0.1%SDS**

ละลาย 20XSSC ปริมาตร 2.5 มล. ในน้ำปลอดประจุ 96.5 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 10%SDS ปริมาตร 1 มล. ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

11. **ชุดติดฉลากและติดตามตำแหน่งดีเอ็นเอ** DIG High Prime DNA labeling and detection starter kit I (Roche, Germany)

ประกอบด้วย

หลอดหมายเลข 1. DIG-High Prime, 5X conc.

หลอดหมายเลข 2. DIG-labeled control DNA 5 □g/ml

หลอดหมายเลข 3. DNA dilution buffer

หลอดหมายเลข 4. Anti-Digoxygenin-AP Conjugate 750 U/ml

หลอดหมายเลข 5. NBT/BCIP, 50X conc.

ขวดหมายเลข 6. Blocking solution, 10X conc.

ขวดหมายเลข 7. DIG Easy Hyb Granules (add 64 ml sterile double distilled water, dissolve at 37 ^{o}C)

และสารละลายที่ต้องเตรียมเพิ่มในการทดลองเป็นดังนี้

Maleic acid buffer

กรดมาเลอิก	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.15 โมลาร์

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 7.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

Blocking solution

ละลาย 10X blocking solution ใน Maleic acid buffer ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

Detection buffer

Trismabase	0.1 โมลาร์
โซเดียมคลอไรด์	0.1 โมลาร์

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 9.5 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

12. สารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Trismabase ($C_4H_{11}NO_3$)	121.1 กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	42 มล.

ละลาย Trismabase ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

12. สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$)	186.1 กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	20 กรัม

ละลาย EDTA ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. จากนั้นเติมเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

13. บัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Tris-HCl	10.0	มิลลิโมลาร์
EDTA	1.0	มิลลิโมลาร์

ผสมสารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 10 มล. เข้ากับสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 2 มล. เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

14. บัฟเฟอร์ 50X Tris-acetate (TAE)

Tris base	242	กรัม
กรดอะซีติกเข้มข้น	57.1	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	100	มล.

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. แล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

15. สารละลาย CTAB/NaCl (10%CTAB ใน 0.7 M NaCl)

CTAB	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.7	โมลาร์

ละลาย CTAB ในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 ^{o}ซ ปริมาตร 80 มล. จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เมื่อละลายหมดแล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

16. สารละลายฟีนอล (phenol)

นำฟีนอลในรูปเกล็ดของแข็งมาหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 68 °ซ จากนั้นเติมผงไฮดรอกซีควิโนลีน ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1% แล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง เป็น 8.0 ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น ดูดชั้นฟีนอลมาวัดความเป็นกรด-ด่างให้ได้เท่ากับ 7.8 (ใช้ pH paper วัด) ถ้ายังไม่ได้ให้ดูดสารละลายชั้นบนทิ้งแล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.0 ลงไปอีกครั้ง เขย่าให้เข้ากันทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆจนกระทั่งชั้นฟีนอลมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.8 สุดท้ายเติมบัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เขย่าให้เข้ากันแล้วดูดสารละลายชั้นบนทิ้ง เติมบัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ในอัตราส่วน 1:1 อีกครั้ง เก็บที่อุณหภูมิ 4 °ซ ในขวดสีชาที่ปิดฝาแน่น

17. สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เป็น 25 : 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

18. สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ

19. Loading dye

Bromphenolblue	0.025 %
ซูโครส	40 %

ละลายส่วนผสมในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

20. สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE

ละลายผงเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทในที่มืด

21. สารละลายโซเดียมอะซีเตท เข้มข้น 3 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.2

ละลายโซเดียมอะซีเตท น้ำหนัก 204 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรประมาณ 400 มล. นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.2 ด้วยกรดอะซีติกปริมาตรประมาณ 57 มล. เติมน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรครบ 500 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ เป็นเวลา 20 นาที

22. สารละลายโปรตีเนสเค (proteinase K) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 20 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ

23. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ

24. สารละลาย X-gal ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง X-gal น้ำหนัก 500 มก. ในสารละลาย dimethylformamide ให้ครบปริมาตร 10 มล. เก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{o}ซ ในหลอดปิดสนิทและป้องกันแสง

25. สารละลาย IPTG ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ละลายผง IPTG น้ำหนัก 0.2 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 10 มล. กรองผ่านหัวกรองฆ่าเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$ซ

ภาคผนวก ค

การเปรียบเทียบความเหมือนของกรดอะมิโนโดยโปรแกรม BlastX version 2.2.6

Query หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนในงานวิจัยนี้

Sbjct หมายถึง ลำดับกรดอะมิโนที่เปรียบเทียบใน GenBank

\+ หมายถึง กรดอะมิโนในกลุ่มเดียวกัน

1. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF1

gi|119382936|ref|YP_913992.1| aldehyde dehydrogenase
[Paracoccus denitrificans PD1222] Length=483

Score = 657 bits (1694), Expect(2) = 0.0
Identities = 337/466 (72%), Positives = 395/466 (84%), Gaps = 0/466 (0%)
Frame = +1

```
Query  16    MDTLLYIDNEARGATDNETFARRSPVTGEVVTQGAAAKSEDALAAIDSAQRAFVTWSQTG  195
             M+TLL+IDNE   ATD  TF R +P TG+ VT+GAAA   D+LAA+D+A RAFV WS++G
Sbjct  1     METLLHIDNEPVSATDGATFERVAPHTGQTVTRGAAAGIRDSLAAVDAASRAFVEWSRSG  60

Query  196   PGQRRVLLMRAADEIEKRTEDFVVAMKGEVGAGELWARFNVMLAANVFREAAAMTTQIQG  375
             PGQRR LL++AADEIE R  DFV AM+ EVGA  LW++FNVMLAAN+FREAA + TQIQG
Sbjct  61    PGQRRALLLKAADEIEARMGDFVAAMQAEVGANALWSQFNVMLAANLFREAAGLATQIQG  120

Query  376   RTIPSDKPGTLSMTVRQPVGVILSIVPWNGPIVLAARAIAYPLMCGNTVVFRASETSPKT  555
              TIP+DKPGTLSMT+RQP GV+LSIVPWNGP+VLAARAIAYPL+CGNTVVFRASETSP+T
Sbjct  121   ETIPTDKPGTLSMTLRQPCGVVLSIVPWNGPVVLAARAIAYPLVCGNTVVFRASETSPRT  180

Query  556   HALVAEAVYAAEFPAGTLNFVTNDPKDAPEVIETMIAHPAVRRVNFTGSTNVGRIIGEKC  735
             H L+A+AVYAA FPAGTLNF+T+D  APE IE +IAHPAVRRVNFTGST VGRIIGEK
Sbjct  181   HELIAQAVYAAGFPAGTLNFITHDLSTAPEAIEALIAHPAVRRVNFTGSTAVGRIIGEKA  240

Query  736   GRHLKRCILELGDKSPMVVLRDADIDGAVNATIFGAFLYQGQICMSTERVIVEEPIADAF  915
             G+HLKRCILELGDKSP+VVL DA +D AV A IFGAFLYQGQICM+TER+IV+E IAD +
Sbjct  241   GKHLKRCILELGDKSPLVVLDDARVDDAVTAGIFGAFLYQGQICMTTERIIVDEKIADDY  300

Query  916   VEKLAARAAQLQAGDPRTQAACALGPVVSQGaadrlnallddavaKGAELRSGGHADHTL  1095
             V K AARA +L  GDP TQAAC LGPV+S  AADRL  LLDDAVAKGA + +GGH +  +
Sbjct  301   VAKFAARARELPLGDPTTQAACVLGPVISMKAADRLKGLLDDAVAKGARIVAGGHGEGAM  360

Query  1096  MSATVLDGVTSKMRIYSEEAFGPILQVIRVKDADEAVHVANDTEYGLSSAVFGTDMTRAL  1275
             M ATVLDGVT +MRIY+EE FGPI+ +IR K  ++A+ +ANDTE+GLS+ VFG D+TRAL
Sbjct  361   MPATVLDGVTPEMRIYAEETFGPIVSIIRAKGTEDAIRIANDTEFGLSAGVFGQDVTRAL  420

Query  1276  DVAMRIQTGSVHINGATVANEAQAPYGGTKASGWGRFDSQAVIEEF  1413
             +VA R++TGSVHINGATV NEAQAPYGGTKASG+GRFD +AVI+EF
Sbjct  421   EVAARLETGSVHINGATVQNEAQAPYGGTKASGFGRFDGRAVIDEF  466
```

2. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF2

gi|56696506|ref|YP_166863.1| cytochrome P450 family protein [Silicibacter pomeroyi DSS-3]
Length=430

Score = 215 bits (547), Expect = 4e-54
Identities = 124/358 (34%), Positives = 194/358 (54%), Gaps = 5/358 (1%)
Frame = +1

```
Query  39   MKICRFNKSRVGLVEGDEVIDVTDALDLLPQVRYPLPRHDPMIALLDRLMPAFAAASRNG  98
            MKICRFN++R+G+V+GDEV+DVT+AL +LP   YPLP +DP+I  LD L+        ++
Sbjct  1    MKICRFNENRLGVVDGDEVLDVTEALSVLPSYEYPLPGYDPLIKHLDALLARIETLIKDA  60

Query  99   ERRKITEVSLESPVANPGKLVAAPVNYVKHLEEAREQKELHQNNAAQIRVIHETGLFLKA  158
             R  + +V L SPVANPGK++AAP+NY +HL+E      ++   A+  + I ++GLFLKA
Sbjct  61   PRILLADVRLLSPVANPGKIIAAPINYTRHLQEVLADSAINNGVASFTQHIKKSGLFLKA  120

Query  159  TSSLIGPSDPVTLRFPDRRSDHEIELAVIIGRRADRVAAKDALEHVAGYAIGLDMTVRGA  218
             SSL G  + V L   DRR+DHE+ELA++IG+ A  V  + +LE+VAGY IG+DMTVRG
Sbjct  121  NSSLAGAGEGVALSHQDRRNDHEVELAIVIGKTARNVPREKSLEYVAGYCIGIDMTVRGP  180

Query  219  EERSMRKSVDSYSVLGPWLVTADEIPDPSQLDFELQVDGVTRQKANTRDLVLSVPELIEM  278
            EERS RKS DSY++LGPWLVT DEI  P +L   L+V+G  RQ ANT DL+L V EL+E
Sbjct  181  EERSFRKSPDSYTILGPWLVTRDEIDSPGELQMSLKVNGEVRQNANTSDLILGVEELVEF  240

Query  279  ASRFYTLEVGDVIFTGTPEGVGQVLPGNRLHAWIDKIGSMEVQI  322
            AS FYTL  GDVI +GTPEGVG V PG+ + A I++IG+M + I
Sbjct  241  ASSFYTLHPGDVIISGTPEGVGPVNPGDAMLAEIERIGTMTIAI  284
```

3. ผลจากการเทียบความเหมือนของ ORF3

gi|120594340|gb|ABM37779.1| 5-carboxymethyl-2-hydroxymuconate delta-isomerase [Polaromonas naphthalenivorans CJ2] Length=289

Score = 325 bits (833), Expect = 3e-87
Identities = 163/284 (57%), Positives = 208/284 (73%), Gaps = 2/284 (0%)
Frame = +3

```
Query  47   MKICRFNKSRVGLVEGDEVIDVTDALDLLPQVRYPLPRHDPMIALLDRLMPAFAAASRNG  226
            MKICRF+  R+GLV+G+ V DVT ALD+LP  RYPLP  DP+IALL  ++ A    + +
Sbjct  1    MKICRFDNDRLGLVDGETVRDVTAALDVLPNHRYPLPIFDPLIALLPEVLEAIRRIAPSS  60

Query  227  ERRKITEVSLESPVANPGKLVAAPVNYVKHLEEAREQKELHQNNAAQIRVIHETGLFLKA  406
                +    L +PVANPGK++AAPVNY KHL+EAREQ E+H NN  Q+  I + GLFLKA
Sbjct  61   PTLPLAGRRLLAPVANPGKVIAAPVNYKKHLQEAREQVEIHHNN--QVAEIEKIGLFLKA  118

Query  407  TSSLIGPSDPVTLRFPDRRSDHEIELAVIIGRRADRVAAKDALEHVAGYAIGLDMTVRGA  586
            TSS++GPS  V ++ PDRR+DHE EL  +IG+    +  + A +H++ Y IGLDMTVRG
Sbjct  119  TSSVVGPSHGVEIQHPDRRNDHEAELVAVIGKTGRNIPRERAFDHISAYTIGLDMTVRGP  178

Query  587  EERSMRKSVDSYSVLGPWLVTADEIPDPSQLDFELQVDGVTRQKANTRDLVLSVPELIEM  766
            +ERS+RKS+D+YSV+GPWLVTADEI DP  LDF L V+G  RQKANTRDLVL +P LIEM
Sbjct  179  QERSLRKSIDTYSVVGPWLVTADEIDDPQALDFWLTVNGERRQKANTRDLVLDIPALIEM  238

Query  767  ASRFYTLEVGDVIFTGTPEGVGQVLPGNRLHAWIDKIGSMEVQI  898
            AS +YTL+ GD++FTGTPEGVG V+ G+ +   I  IG M V +
Sbjct  239  ASSYYTLQPGDLLFTGTPEGVGPVVNGDEITVEIAGIGRMNVAV  282
```

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวโสรจยา แววศักดิ์ เกิดเมื่อวันที่ 13 ตุลาคม พ.ศ.2524 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2545 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546