สารกดการผลิตไนตริกออกไซด์ในการอักเสบจาก *Streptomyces* spp.

นางสาวนันทวรรณ สินปราณี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

NITRIC OXIDE PRODUCTION SUPPRESSANTS IN INFLAMMATION FROM *Streptomyces* spp.

Miss Nuntawan Sinpranee

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

542273

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สารกดการผลิตไนตริกออกไซด์ในการอักเสบจาก *Streptomyces* spp.
โดย	นางสาวนันทวรรณ สินปราณี
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ธนาภัทร ปาลกะ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธนาภัทร ปาลกะ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุลี ยมภักดี)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ พริ้งศุลกะ)

นันทวรรณ สินปราณี: สารกดการผลิตไนตริกออกไซด์ในการอักเสบจาก *Streptomyces* spp. (NITRIC OXIDE PRODUCTION SUPPRESSANTS IN INFLAMMATION FROM *Streptomyces* spp.) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. ธนาภัทร ปาลกะ, 102 หน้า.

การอักเสบแบบเฉียบพลันเป็นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อป้องกันอันตรายจากสิ่งเร้าภายนอกซึ่งอาจทำให้เกิดอันตราย เมื่อกระบวนการอักเสบเกิดต่อเนื่องเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการพัฒนาไปเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคที่เกี่ยวกับความผิดปกติของภูมิคุ้มกันต่างๆ ไนตริกออกไซด์เป็นสารสื่อชนิดหนึ่งที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดการอักเสบ ไนตริกออกไซด์สังเคราะห์ขึ้นจากการถอดรหัสของยีน *iNOS* การรักษาการอักเสบในปัจจุบัน มีการใช้ยาในกลุ่มของ Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs) แต่เนื่องจากการรักษาด้วยยาชนิดนี้ทำให้เกิดผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ เช่น การเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และการเป็นพิษต่อไต จึงมีความพยายามที่จะพัฒนายาต้านการอักเสบชนิดใหม่ที่หลีกเลี่ยงผลข้างเคียงเหล่านี้ ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกสารจากเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบจาก *Streptomyces* spp. ที่คัดกรองได้จากตัวอย่างดิน ของจังหวัดน่าน งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้คัดแยก *Streptomyces* spp. D230704 และ O245704 จาก 178 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ ในงานวิจัยนี้ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ของ *Streptomyces* spp. ทั้ง 2 ไอโซเลต ด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA พบว่า *Streptomyces* sp. D230704 และ *Streptomyces* sp. O245704 มีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces lanatus* และ *Streptomyces yokosukanensis* ที่ 99% และ 100% ตามลำดับ และจากการทำให้สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพบริสุทธิ์โดยวิธีทางเคมี สามารถแยกสารจาก *Streptomyces* sp. O245704 และจัดจำแนกพบว่าเป็น dihydroeponemycin เมื่อศึกษาฤทธิ์ของ dihydroeponemycin ต่อแมโครฟาจที่ถูกกระตุ้น พบว่าสารนี้มีฤทธิ์กดการแสดงออกของโปรตีน iNOS และกดการแสดงออกของยีน *IL-6* นอกจากนี้ยังศึกษากลไกของสารต่อวิถีสัญญาณ TLR4 พบว่า dihydroeponemycin มีผลต่อการกระตุ้นของวิถีสัญญาณ NF-κB และวิถีสัญญาณ MAPK ในแมโครฟาจที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ผลจากงานวิจัยพบว่าสารที่แยกได้อาจมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาไปเป็นยาต้านการอักเสบชนิดใหม่ที่ไม่มีผลข้างเคียงในการรักษา

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต นันทวรรณ สินปราณี

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ธนาภัทร ปาลกะ

ปีการศึกษา 2554

5272367823: MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEYWORDS : INFLAMMATION / STREPTOMYCES / NITRIC OXIDE

NUNTAWAN SINPRANEE: NITRIC OXIDE PRODUCTION SUPPRESSANTS IN INFLAMMATION FROM *Streptomyces* spp. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. TANAPAT PALAGA, Ph.D. 102 pp.

Acute inflammation is the simple bodily function of immune responses to protect tissue damages by stimuli. Acute inflammation can progress to chronic inflammation when it is properly controlled. Chronic inflammation is a major cause of autoimmune diseases. Nitric oxide is an important mediator in inflammation, and its production is modified by an enzyme nitric oxide synthase (NOS). Treatment of chronic inflammatory condition using Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs) may result in undesirable side effects such as gastrointestinal bleeding and renal toxicity, novel anti-inflammatory drugs are in need. In this study, I aimed to identify metabolite(s) with anti-inflammatory activity from *Streptomyces* spp. isolated from soil samples collected in Nan province. In previous study, more than 178 isolates were screened and was found that metabolites of *Streptomyces* spp. D230704 and O245704 showed strong anti-inflammatory activity with little effect on viability of macrophages. Identification of these strains by 16S rDNA sequence analysis indicated that *Streptomyces* spp. D230704 and O245704 are closely related to that of *Streptomyces lanatus* with 99% similarity and to that of *Streptomyces yokosukanensis* with 100% similarity. Purification of metabolite from *Streptomyces* sp. O245704 was conducted using chemical methods and it was identified as dihydroeponemycin. Dihydroeponemycin suppressed nitric oxide production and decreased mRNA expression and protein expression of i*NOS* gene in macrophage cell line RAW 264.7 and activated by LPS and IFN-γ .Dihydroeponemycin treatment decreased mRNA expression of *IL-6* in macrophages. In addition, TLR4 signaling was affected by dihydroeponemycin such as NF-κB and SAPK/JNK in MAPK signaling. These results indicated that dihydroeponemycin has anti-inflammatory activity, which would be developed to be a novel anti-inflammatory drug.

Department : .Microbiology ..... Student's Signature Nuntawan Sinpranee

Field of Study : Industrial Microbiology ..... Advisor's Signature Tanapat Palaga

Academic Year : 2011 .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร.ธนาภัทร ปาลกะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่ดียิ่งแก่ผู้วิจัย ให้คำปรึกษาและเสนอแนวทางแก้ไขในทุกขั้นตอนของงานวิจัย ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุลี ยมภักดี รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ พริ้งศุลกะ ที่สละเวลาอันมีค่ามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้ความรู้ คำแนะนำในงานวิจัยแก่ผู้วิจัย

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ขนิษฐา พุฒหอม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้คำปรึกษา คำแนะนำการในการวิเคราะห์สารสกัดในทุกขั้นตอน และเอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการวิเคราะห์สารในงานวิจัย

ขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมืองานวิจัย และขอบคุณเจ้าหน้าที่ บุคลากรภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านในการให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกตลอดงานวิจัย ตลอดจนขอบคุณสมาชิกทุกท่านในห้องปฏิบัติการของงานวิจัย สำหรับความห่วงใย ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดมา

สุดท้ายกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว เป็นอย่างสูง ที่คอยสนับสนุน เป็นกำลังใจไม่ว่าจะมีอุปสรรคใดๆ และเข้าใจทุกอย่างตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญรูปภาพ..... ฎ
สารบัญแผนภูมิ..... ฐ
สัญลักษณ์และคำย่อ..... ฑ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
บทที่ 2 ปริทรรศน์วรรณกรรม..... 5
2.1 *Streptomyces*..... 5
2.1.1 ลักษณะโดยทั่วไป..... 5
2.2 การอักเสบ (Inflammation)..... 9
2.2.1 สารสื่อกลาง (chemical mediator)..... 10
2.2.2 ยาต้านการอักเสบ (anti-inflammatory drug)..... 13
2.2.3 โรคที่เกิดจากการอักเสบ..... 14
2.3 วิถีสัญญาณ Toll like receptor (TLR singaling)..... 15
2.3.1 แมโครฟาจ (Macrophage)..... 15
2.3.2 วิถีสัญญาณ Toll-like receptor 4 (Toll-like receptor 4; TLR4 signaling)..... 16
2.4 ความสำคัญของ *Streptomyces*..... 19
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย..... 23
3.1 การเก็บรักษา *Streptomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 23
3.1.1 การเก็บรักษาเชื้อในรูปแบบสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง..... 23
3.1.2 การเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวชนิด C4 เพื่อเก็บเกี่ยวสารเมแทบอไลต์..... 23
3.2 การเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวชนิด C4 เพื่อเก็บเกี่ยวสารเมแทบอไลต์..... 23

หน้า

3.2.1 การเลี้ยง *Streptomyces* เพื่อเก็บเกี่ยวสายใย..... 23
3.2.2 การสกัดจีโนมิคดีเอ็นเอ..... 24
3.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S subunit of ribosomal DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรส..... 25
3.2.4 การทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์จากอะกาโรสเจล..... 26
3.2.5 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ 16S rDNA..... 26
3.3 การทำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Streptomyces* spp. ให้บริสุทธิ์และการพิสูจน์เอกลักษณ์..... 27
3.3.1 การสกัดและการคัดกรองสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ..... 27
3.4 เซลล์และอาหารเลี้ยงเซลล์..... 31
3.4.1 การเก็บรักษาเซลล์ RAW 264.7..... 31
3.4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารโดยวิธี MTT..... 31
3.4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการวัดปริมาณการผลิตไนตริกออไซด์..... 32
3.5 การศึกษาการแสดงออกของโปรตีนโดยวิธี Western blot..... 33
3.5.1 การสกัดโปรตีนจากเซลล์..... 33
3.5.2 การวิเคาะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี BCA assay..... 34
3.5.3 Western blot..... 34
3.5.4 การตรวจวัดสัญญาณ chemiluminesence ด้วยวิธี autoradiography..... 36
3.6 การศึกษาการแสดงออกของ mRNA..... 36
3.6.1 การสกัด Total RNA..... 36
3.6.2 การสังเคราะห์ complementary DNA (cDNA)..... 37
3.6.3 ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสชนิดวัดตามปริมาณตามเวลาจริง..... 38
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 39
บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 40
4.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ 16S rDNA ของ *Streptomyces* spp. D230704 และ O245704..... 40
4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดจากเมแทบอไลต์จาก *Streptomyces* spp. D230704 และO245704 ต่อการผลิตไนตริกออกไซด์ของแมโครฟาจที่ได้รับการกระตุ้น ด้วย LPS และ IFN-γ..... 43

หน้า

4.3 การทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการต้านอักเสบของเมทาบอไลท์บริสุทธิ์..... 44
4.3.1 *Streptomyces* sp. D230704..... 44
4.3.2 *Streptomyces* sp. O245704..... 52
4.4 ผลของ dihydroeponemycin ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และการอักเสบในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 58
4.5 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการแสดงออกของยีน *iNOS* ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 60
4.6 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการแสดงออกของยีน *IL-6* และ *TNFa* ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 64
4.7 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) ของวิถีสัญญาณต่างๆ ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่ กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ 65
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง..... 70
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง..... 73
รายการอ้างอิง..... 74
ภาคผนวก..... 80
ภาคผนวก ก..... 81
ภาคผนวก ข..... 83
ภาคผนวก ค..... 91
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 102

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่สังเคราะห์ได้จาก *Streptomyces*..... 20

3.1 องค์ประกอบของ ปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรส เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA..... 25

3.2 อัตราส่วนความเข้มข้นของแอติบอดีปฐมภูมิ..... 35

3.3 องค์ประกอบของปฏิกิริยาสังเคราะห์ cDNA..... 37

3.4 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสชนิดวัดปริมาณตามเวลาจริง..... 38

3.5 อุณหภูมิ annealing และจำนวนของรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสชนิดวัดปริมาณตามเวลาจริง..... 38

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 วงชีวิตของ *Streptomyces*..... 6
2.2 โครงสร้างของบริเวณ 16S *rRNA* ของ *Streptomyces coelicolor*..... 8
2.3 กลไกของวิถีสัญญาณ TLR4..... 18
4.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Streptomyces* sp. D230704..... 41
4.2 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Streptomyces* sp. O245704..... 42
4.3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่ได้รับการกระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 45
4.4 NMR สเปคตราของ crude ethyl acetate ของ *Streptomyces* sp. D230704 (4.6A) และ *Streptomyces* sp. O245704 (4.6B)..... 46
4.5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย P1-P8..... 48
4.6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย P7A1-P7A9..... 49
4.7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 cell line ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัด Crude hexane extract..... 50
4.8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย W1-W8..... 52
4.9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย W2A1-W2A12..... 53
4.10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย A1-A6..... 55
4.11 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์และการอยู่รอดของแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ ของสารสกัดส่วนย่อย A5B6..... 56
4.12 NMR สเปคตราของสารสกัดส่วนย่อย A6B5 ในการวิเคราะห์ตำแหน่งของ C อะตอม จากการศึกษาโดย ^{1}H NMR..... 57

รูปที่ หน้า

4.15 สเปกตรัม MALDI-TOF mass spectrometry ของสารสกัดส่วนย่อย A6B5 จากการคัดแยกจาก *Streptomyces* spp. O245704..... 58
4.16 โครงสร้างทางเคมีของ dihydroeponemycin..... 59
4.17 ผลของสาร dihydroeponemycin ในการต้านการอักเสบในแมโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 60
4.18 ผลของ dihydroeponemycin ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมโครฟาจ RAW 246.7..... 61
4.19 ผลของสาร dihydroeponemycin ต่อการแสดงออกของ mRNA ของยีน *iNOS* ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 63
4.20 ผลของสาร dihydroeponemycin ต่อการแสดงออกของโปรตีน iNOS ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 64
4.21 ผลของสาร dihydroeponemycin ในความเข้มข้นต่างๆ ต่อการแสดงออกของโปรตีน iNOS ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 63
4.22 ผลของสาร dihydroeponemycin ต่อการแสดงออกของ mRNA ของยีน *IL-6* ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 64
4.23 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตของโปรตีน IKBα ของวิถีสัญญาณ NF-KB ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 66
4.24 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตของโปรตีน p65 ของวิถีสัญญาณ MAPK ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 67
4.25 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตของโปรตีน ERK1/2 ของวิถีสัญญาณ MAPK ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 68
4.26 ผลของ dihydroeponemycin ต่อการเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตของโปรตีน SAPK/JNK ของวิธีสัญญาณ MAPK ในแมโครฟาจ RAW 246.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS และ IFN-γ..... 69

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิ		หน้า
3.1	ขั้นตอนการสกัดสารและคัดแยกสารของเมแทบอไลต์จาก *Streptomyces* sp. D230704.....	29
3.2	ขั้นตอนการสกัดสารและคัดแยกสารของเมแทบอไลต์จาก *Streptomyces* sp. O245704.....	30