รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ศิรพรรณ สุคนธสิงห์. 2539. "การโคลนยีนเอทีพีซัลฟูรีเลสของแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์กำมะถันซึ่งแยกได้จากแหล่งธรรมชาติในประเทศไทย" วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย,. หน้า 1.

สุรินทร์ ปียะโชคณากุล. 2539. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 187-199.

ภาษาอังกฤษ

Bick, J., and Leustek, T. 1998. Plant sulfur metabolism the reduction of sulfate to sulfite. Current Opinion in Plant Biology. 1: 240-244.

Brunold, C., and Suter, M. 1990. Sulfur metabolism. B. Adenosine 5'-phosphosulfate Sulphotransferase. Methods Plant Biochem. 3:339-342.

Ernst, W.H. 1998. Sulfur metabolism in higher plants ; potential for phytoremediation. Biodegradation. 9:311-318.

Goldschmidt, E.E., Tsang, M. L. S., and Schiff, J.A. 1975. Studies of sulfate utilization by algae.13.Adenosine-3'-phosphate-5'-phosphosulfate to acid volatile radioactivity. Plant Sci.Lett. 4:293-300.

Gutierrez-Marcos, J. F., Roberts, M. A., Campbell, E. I., and Wray, J. L. 1996. Three member of a novel small gene family from *Arabidopsis thaliana* able to complement functionally an *Escherichia coli* mutant defective in PAPS reductase activity encode proteins with a thioredoxin like domain and APS reductase activity. Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 13377-13382.

Hatzfeld, Y., Cathala, N., Grignon, C., and Davidian, C. 1998. Effect of ATP sulfurylase overexpression in bright yellow 2 Tobacco cell. Regulation of ATP sulfurylase and SO_4^{2-} transport activities. Plant Physiol. 116: 1307-1313.

Hiei, Y., Ohta, S., Lomari, K., and Kumashiro, T. 1994. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of boundaries of T-DNA. Plant J. 6: 271-282.

Hipp, W. M., Pott, A.S., Thum-Schmitz, N., Faath, I., Dahl, C., and Truper, H. G. 1997. Towards the phylogeny of APS reductases and sirohaem sulfite reductases in sulfate-reducing and sulfur-oxidizing prokaryotes. Microbiol. 143: 2891-2902.

Heiss, S., Schafer, J.H., Hagg-Kerwer, A., and Rausch, T. 1999. Cloning sulfur assimilation genes of Brassica juncea L.: cadmium differentially affects the expression of a putative low-affinity sulfate transporter and isoforms of ATP sulfurylase and APS reductase. Plant Mol Biol. 39(4):847-857.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley,J.F., and Williams, S.T. (eds) 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9thEd., Baltimore : Williams & Wilkins. pp. 353 – 358.

Hood, E. E., Helmer, G. L., Fraley, R. T., and Chilton, M. 1986. The hypervirulende of *Agrobacterium tumefaciens* A281 is encoded in a region of pTiBo542 outside of T-DNA. J.Bacteriol. 168: 1291-1301.

Kimura, T., Takeda, S., Kyozuka, J., Asahi, T., Shimamoto, K., and Nakamura, K. 1993. The presequence of a precursor to the δ-subunit of sweet potato mitochondrial F_1ATPase is not sufficient for the transport of β-glucuronidase (GUS) into mitochondria of tobacco, rice and yeast cells. Plant Cell Physio. 34(2):345-355

Raven, P.T., Evert, R.F., and Eichhorn, S.E. 1992. Biology of plant. 5th Ed., New York:Worth Publisher,Inc. pp:565-572.

Rossi, G. 1993. Biodepyritization of coal: achievements and problems. Fuel. 72: 1581-1592.

Saito, K. 2000. Regulation of sulfate transport and synthesis of sulfur-containing amino acids. Curr Opin Plant Biol. 3(3):188-195.

Schmidt, A. 1972. On the mechanism of photosynthetic sulfate reduction. An APS sulfotransferase from *Chlorella*. Arch. Microbiol. 84: 77-86.

Schmidt, A. and Jager, K. 1992. Open question about sulfur metabolism in plant. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 325-349.

Schiffmann, S., and Schwenn, J. D. 1994. APS-sulfotransferase activity is identical to higher plant APS kinase (EC 2.7.25). FEBS Lett. 355: 229-232.

Setya, A., Murillo, M., and Leustek, T. 1996. Sulfate reduction in higher plants: molecular evidence of a novel 5-adenylylphosphosulfate (APS) reductase. Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 13383-13388.

Walden, R., Reiss, B., Koncz, C., and Schell J. 1997. The impact of Ti-plasmid-derived gene vectors on the study of the mechanism of action of phytohormones. Annu. Rev. Phytopathol. 35:45-66.

Watson, J. D., Tooze, J., and Kurtz, D. T. 1975. Recombinant DNA: A short course. New York: W. H. Freeman and Company. pp: 164-173.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani(LB)

แบคโต-ทริปโตน	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	10	กรัม
วุ้นผง (สำหรับอาหารแข็ง)	15	กรัม

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ SOB

แบคโต-ทริปโตน	20	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	10	มิลลิโมลาร์
โพแทสเซียมคลอไรด์	2.5	มิลลิโมลาร์
แมกนีเซียมคลอไรด์	10	มิลลิโมลาร์
แมกนีเซียมซัลเฟต	10	มิลลิโมลาร์

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ YEP

แบคโต-เปปโตน	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
วุ้นผง (สำหรับอาหารแข็ง)	15	กรัม

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มล. ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ M9

ส่วนที่ 1

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	6	กรัม
โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	3	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.5	กรัม
แอมโมเนียมคลอไรด์	1	กรัม
ผงวุ้นสำหรับอาหารแข็ง	15	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 887 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 7.4 นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ส่วนที่ 2

แมกนีเซียมซัลเฟต 1 โมลาร์	2	มิลลิลิตร
สารละลายกลูโคส 20%	10	มิลลิลิตร
แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์	1	มิลลิลิตร

สารละลายแต่ละชนิดแยกฆ่าเชื้อโดยวิธี การกรอง หรือนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ส่วนที่ 3

กรดอะมิโน 20 ชนิด ชนิดละ	0.025	กรัม
หรือ กรดอะมิโนทุกชนิดยกเว้น		
กรดอะมิโนซิสเตอีนและเมไธโอนีนชนิดละ	0.025	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายกรดอะมิโนทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มล. ฆ่าเชื้อโดยวิธีกรอง หรือนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หลังจากเย็นแล้วผสมส่วนที่ 1, 2 และ 3 รวมกัน

ภาคผนวก ข

1.สารละลายสำหรับสกัดพลาสมิด

1.1 สารละลาย I

	ความเข้มข้นสุดท้าย	
สารละลายกลูโคส	50	มิลลิโมลาร์
สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-คลอไรด์ ค่าพีเอช 8	25	มิลลิโมลาร์
สารละลายอีดีทีเอ ค่าความเป็นกรดด่างเป็น 8	10	มิลลิโมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.2 สารละลาย II

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 นอร์มอล	0.2	มิลลิลิตร
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 10%(น้ำหนัก/ปริมาตร)	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	8.8	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

1.2 สารละลาย III

สารละลายโปแตสเซียมอะซิเตตความเข้มข้น 5 โมลาร์	50	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น	11.5	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	28.5	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

2. สารละลายฟีนอล-คลอโรฟอร์ม

นำฟีนอลที่ผ่านการทำให้สมดุล (equilibrate) ด้วยทริส-เบส ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0 แล้วเติม 8-Hydroxyquinoline ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำมาผสมกับ chloroform และ isoamyl-alcohol ในอัตราส่วน 25:24:1

3. สารละลายบัฟเฟอร์ TE ค่าความเป็นกรดด่าง 8.0

สารละลายทริส-เบส ความเข้มข้นสุดท้าย 10 มิลลิโมลาร์

สารละลายอีดีทีเอความเข้มข้นสุดท้าย 1 มิลลิโมลาร์

ผสมองค์ประกอบทั้งสองเข้าด้วยกันแล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นจนได้ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเป็น 8

4. สารละลายแอมพิซิลินความเข้มข้นสุดท้าย 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

แอมพิซิลิน (ในรูปเกลือโซเดียม) 200 ไมโครกรัม

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มล. แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

5.สารละลายกานามัยซินความเข้มข้นสุดท้าย 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

กานามัยซิน (ในรูปเกลือซัลเฟต) 200 ไมโครกรัม

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มล. แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

6.สารละลายไฮโกรมัยซินความเข้มข้นสุดท้าย 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สารละลายไฮโกรมัยซินบี 200 ไมโครกรัม

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มล. แล้วนำมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

7.สารละลายสำหรับการเตรียมเซลล์คอมพีเทนต์

7.1 สารละลาย RF I

โปแตสเซียมอะซิเตต	0.294	กรัม
รูบิเดียมคลอไรด์	1.120	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	0.198	กรัม
แมงกานีสคลอไรด์	0.990	กรัม
สารละลายกลีเซอรอลเข้มข้น 15% (ปริมาตร/ปริมาตร)	12.190	มิลลิลิตร

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

7.2 สารละลาย RF II

MOPS	0.21	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	1.10	กรัม
รูบิเดียมคลอไรด์	0.12	กรัม
สารละลายกลีเซอรอลเข้มข้น 15% (ปริมาตร/ปริมาตร)	12.190	มิลลิลิตร

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

8. สารละลายบัฟเฟอร์ TAE (ความเข้มข้น 50 เท่า)

ทริส-เบส	202	กรัม
กรดอะซิติกเข้มข้น	57.1	มิลลิลิตร
สารละลายดีดีทีเอความเข้มข้น 0.5 โมลาร์	100	มิลลิลิตร

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

9. สีติดตาม (tracking dye)

กลีเซอรอล	10	มิลลิลิตร
2-เมอแคปโตเอทานอล	5	มิลลิลิตร
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)	10	มิลลิลิตร
สารละลายบัฟเฟอร์ทริส-คลอไรด์ ค่าความเป็นกรดด่าง 6.8 เข้มข้น 0.5 โมลาร์	12.5	มิลลิลิตร
บรอมฟีนอลบลูเข้มข้น 1 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)	0.1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	12.5	มิลลิลิตร

ละลายองค์ประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

10. สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟต

10.1 สารละลายปรับสภาพ (Conditioning Reagent)

น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร
เอธานอล 95%	100	มิลลิลิตร
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	30	มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์	75	กรัม
กลีเซอรอล	50	มิลลิตร

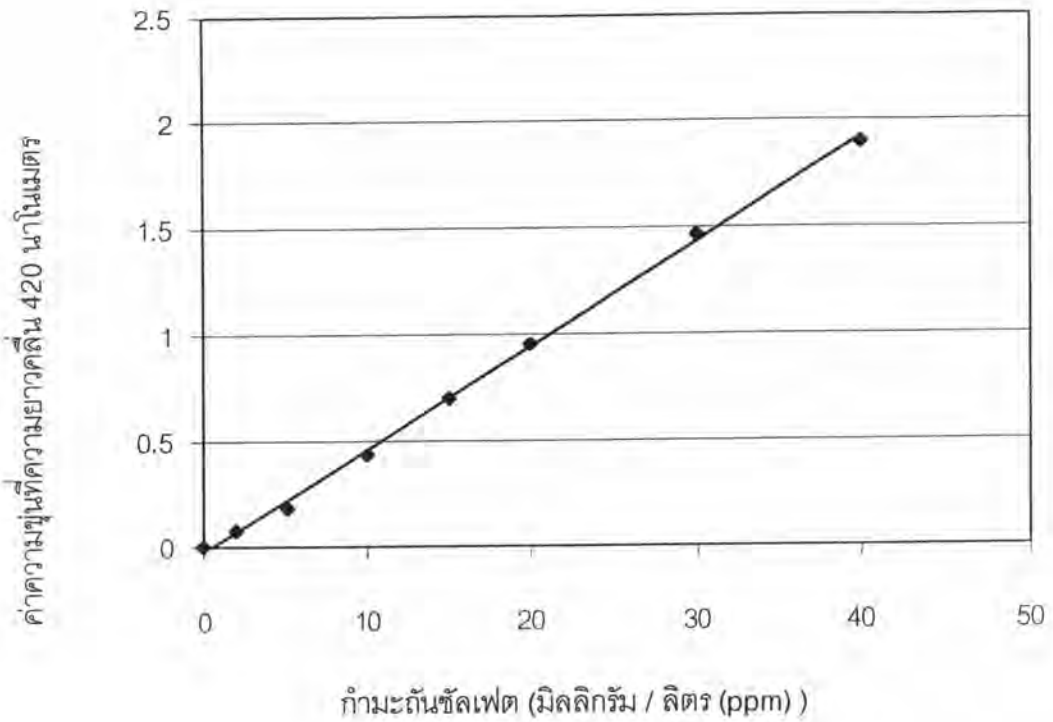
ผสมตามลำดับ หลังจากใส่โซเดียมคลอไรด์คนให้ละลายแล้วจึงเติมกลีเซอรอล

10.2 สารละลายมาตรฐานโซเดียมซัลเฟต

ละลายโซเดียมซัลเฟต 0.1479 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของกำมะถันซัลเฟต 0.100 มิลลิกรัม/มล. ทำการเจือจางโดยผสมสารละลายมาตรฐานปริมาณ 0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 30.0 และ 40.0 มล. ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกำมะถันซัลเฟตมาตรฐานเข้มข้น 0-40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm)

10.3 ผลึกแบเรียมคลอไรด์	0.75	กรัม

ภาพที่ ข 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของกำมะถันซัลเฟตและค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

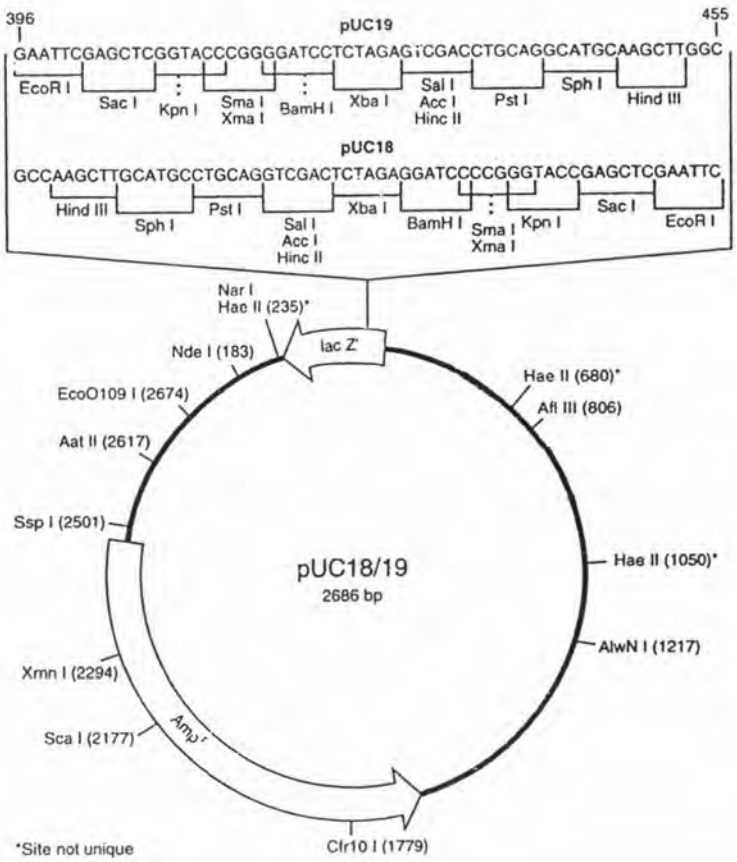


11. สารละลายโคโลนีแครกกิง (Cracking buffer)

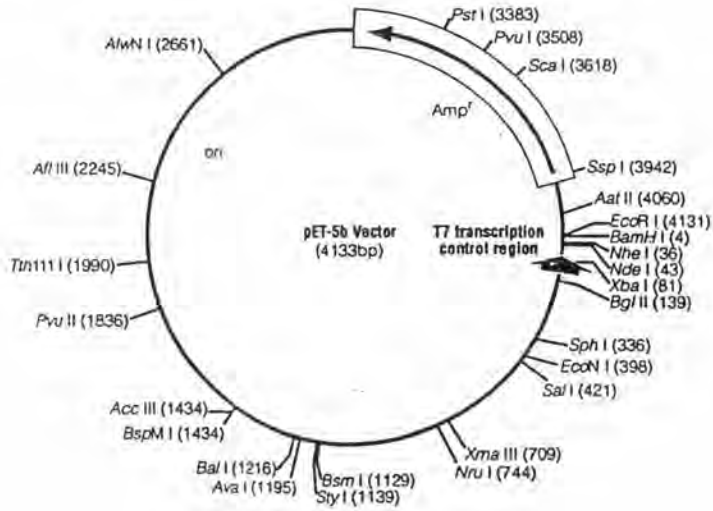
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิโมลาร์	10	ไมโครลิตร
สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร)	50	ไมโครลิตร
สารละลายอีดีทีเอ 0.5 มิลลิโมลาร์	10	ไมโครลิตร
สีติดตาม BPB	200	ไมโครลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค



รูปที่ ค.1 แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pUC18



pET-5b Vector

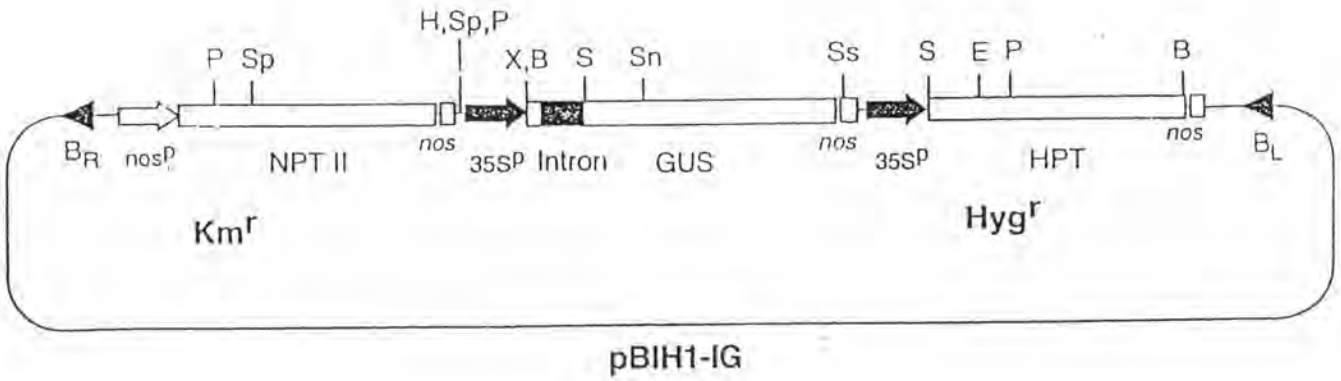
Nde I

CTTTAAGAAGGAGATATACAT ATG GCT AGC ATG ACT GGT GGA CAG CAA ATG GGT
Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly

BamH I *EcoR* I

CGG GAT CCG AAT TC
Arg Asp Pro Asn

รูปที่ ค.2 แผนที่เรสทริกชันของพลาสมิดพาหะ pET5b



รูปที่ ค.3 แผนที่เรสทริกชัน ตำแหน่งยีน *Gus* และยีนต้านต่อสารปฏิชีวนะกานามัยซินและไฮโกรมัยซิน บนพลาสมิดพาหะ pBIH1-IG

โดย P, *Pst*I; Sp, *Spn*I; H, *Hin*dIII; X, *Xba*I; B, *Bam*HI; S, *Sal*I; Sn, *Sna*BI; Ss, *Sac*I; E,*Eco*RI

พลาสมิดพาหะ pBIH1-IG(SX) เป็นพลาสมิดดัดแปลงจากพลาสมิดพาหะ pBIHI-IG โดยตำแหน่งจดจำของเอนไซม์เรสทริกชัน *Sac*I ถูกเปลี่ยนเป็นตำแหน่งจดจำของเอนไซม์เรสทริกชัน *Xho*I

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสินีนาฏ สายบาง เกิดวันที่ 2 พฤศจิกายน พ.ศ. 2511 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2532 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท ในหลักสูตรจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรมในปีการศึกษา 2540 ปัจจุบันปฏิบัติงานที่ กองอนามัย ฝ่ายการแพทย์และอนามัย การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จ.นนทบุรี