

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรรณิกาว์ ดวงมาลย์. 2538. การผลิตบีตาไซโลลิเคสโดย *Streptomyces* sp. ในขวดเยาะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุมาลี อังใจธรรม. 2539. ไซแลเนสและบีตาไซโลลิเคสจาก *Streptomyces* sp. ที่ชอบร้อนและชอบค้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต. 2533. การโคลนและการแสดงออกของไซแลเนสยีนจาก *Streptomyces* sp. 42-9 ใน *Streptomyces* sp. 190-1. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Apel-Birkhold, P.C., and Walton, J.D. 1996. Cloning, Disruption, and expression of two endo- β 1,4- xylanase genes, XYL2 and XYL3, from *Cochliobolus carbonum*. Appl. Environ. Microbiol. 62(11): 4129-4135.
- Baba, T., Shinke, R., and Nanmoni, 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.
- Ball, A.S., and McCarthy, A.J. 1989. Production and properties of xylanase from actinomycetes. J. Appl. Bacteriol. 66: 439-444.
- Bemier, R. J.R., Driiguez, H., and Desrochers, M. 1983. Molecular clone of a *Bacillus subtilis* xylanase in *E. coli*. Gene. 26: 59-65.
- 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.

- Bibb, A.J., Schottel, J.L., and Cohen, S.N. 1980. A DNA cloning system for interspecies gene transfer in antibiotic – producing *Streptomyces*. Nature. 284: 526-530.
- Biely, P. 1985. Microbiol xylanolytic systems. Trends Biotechnol. 3(11) : 286-290.
- Biely, P. and Petrakova, K. 1985. Novel inducer of the xylan-degrading enzymes system of *Cryptococcus albidus*. J. Bacteriol. 160: 408-412.
- Birch, A.W., and Cullum, J. 1985. Temperative-sensitive mutants of the *Streptomyces* plasmid pIJ702. J. Gen. Microbiol. 131: 1299-1303.
- Biswas, S.R., Mishra, A.K., and Nanda, G. 1987. Xylanase and β -xylosidase production by *Aspergillus ochraceus* during growth on lignocelluloses. Biotechnol. Bioeng. 31: 613-616.
- Chanda, S.K., Hirst, E.L., Jones, J.K.N., and Percival, E.G.V. 1950. The constitution of xylan from esparto grass (*Stipa tenacissima*). J. Chem. Soc. 1289-1297.
- Dekker, R.F.H., and Richards, G.N. 1976. Hemicellulose: their occurrence, purification, properties and mode of action. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 32: 277-352.
- Desphande, V., Lachke, A., Mishra, C., Keshar, S., and Roat, M 1985. Mode of action and properties of xylanase and β -xytosidase from *Neurospora crassa*. Biotechnol. Bioeng. 28: 1832-1837.
- Dowar, W.J., Miller, J.F., and Ragsdale, C.W. 1988. High efficiency transformation of *E. coli* by high voltage electroporation. Nucleic Acid Res. 16: 6127-6145.
- Dwivedi, P.P., Gibbs, M.D., and Bergquist, P.L. 1996. Cloning, sequencing, and overexpression in *Escherichia coli* of a xylanase gene, *xynA*, from the thermophilic bacterium R18B.4 genus *Caldicellulosiruptor* . Appl. Microbiol. Biotechnol. 45: 86-93.
- Eda, S., Ohnishi, A., and Kato, K. 1976. Xylan isolation from the stalk of *Nicotiana tobacum*. Agric. Biol. Chem. 40: 359-364.
- Ericksson, K.E.L., Blanchette, R.A., and Ander, P. 1990. Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components. Ozach GmbH and Co., Berlin, Germany. P. 181-222.
- Ethier, J.F., Harpin, S., Girard, C., Beaulieu, C., Dery, C.V., and Brzezinsk, R. 1994. Cloning of two xylanase genes from the newly isolated actinomycete

- Actinomadura* sp. Strain FC7 and characterization of the gene products. Can. J. Microbiol. 40: 362-368.
- Flint, H.J., McPherson, C.A., and Bisset, J. 1989. Molecular cloning of genes from *Ruminococcus flavefaciens* encoding xylanase and $\beta(1-3,1-4)$ glucanase activities. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1230-1233.
- Fukuda, M., Muramatsu, T., and Egami, F. 1969. β -xylosidase from the liver of *Charonia lampus* I. Purification, properties and application in carbohydrates research. J. Biochem. 65: 191-199.
- Ghangas, G.S., Hu, Y.J., and Wilson, D.B. 1989. Cloning of a *Thermomonospora fusca* xylanases gene and its expression in *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans*. J. Bacteriol. 17(6): 2963-2969.
- Gibbs, M.D., Reeves, R.A., Bergquist, P.L. 1995. Cloning, sequencing, and expression of a xylanase gene from the extreme thermophile *Dictyoglomus thermophilum* Rt46B.1 and activity of the enzyme on fiber-bound substrate. Appl. Environ. Microbiol. 61(12): 4403-4408.
- Gilbert, H.J., and Hazlewood, G.P. 1993. Bacterial cellulases and xylanases. J. Gen. Microbiol. 139: 187-194.
- Gilbert, H.J., Sullivan, D.A., Jenkins, G., Kellett, L.E., Minton, N.P., and Hall, J. 1988. Molecular cloning of multiple xylanase genes from *Pseudomonas fluorescens* subsp. *Cellulosa*. J. Gen. Microbiol. 134: 3239-3247.
- Gilbert, M., Yaguchi, M., Watson, D.C., Wong, K.K.K., Breuil, C., and Saddler, J.N. 1993. A comparison of 2 xylanases from the Thermophilic fungi *Thielavia terrestris* and *Thermoascus crustaceus*. Appl. Microbiol. And Biotechnol. 40(4): 508-514.
- Gokhale, D.V., Puntambekar, U.S., and Deobagkar, D.N. 1986. Xylanase and β -xylosidase production by *Aspergillus niger* NCIM 1207. Biotechnol. Lett. 8(2): 137-138.
- Grabski, A.C., and Jeffries, T.W. 1991. Production, purification, and characterization of beta-(1,4)-endoxylanase of *Streptomyces roseiscleroticus*. Appl. Environ. Microbiol. 57(4): 987-992.

- Grepinet, O., Chebrou, M.C., and Beguin, P. 1988. Nucleotide sequence and deletion analysis of the xylanase gene (*xynZ*) of *Clostridium thermocellum*. J. Bacteriol. 170: 4582-4588.
- Hopwood, D.A. 1981. Genetic studies with bacterial protoplasts. Ann. Rev. Microbiol. 35: 237-272.
- 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 Schempf, H. 1985. Genetic manipulation of *Streptomyces*: a laboratory manual. Norwich: The John Innes Foundation.
- Hopwood, D.A., Wright, H.M., Bibb, M.J., and Cohen, S.N. 1977. Genetic recombination through protoplast fusion in *Streptomyces*. Nature. 268: 171-174
- International Union of Biochemistry (IUB). Nomenclature Committee. 1984. Enzyme Nomenclature: Recommendation of the nomenclature committee of the international union of biochemistry on the nomenclature and classification of enzyme catalyzed reaction. Academic Press. Orlando: 646P.
- Iwasaki, A., Kishida, H., and Okanishi, M. 1986. Molecular cloning of a xylanase gene from *Streptomyces* sp. No. 36a and its expression in *Streptomyces*. J. of Antibiotics, 39: 985-993.
- Jeong, K. J., Lee, P.C., Park, I.Y., and Kim, M.S. 1998. Molecular cloning and characterization of an endoxylanase gene of *Bacillus* sp. in *Escherichia coli*. Enz. Microbiol. Technol. 22: 599-605.
- Kantelinen, A., Hortling, B., Sundquist, J., Linko, M., and Viikari, L. 1993. Proposed mechanism of the enzymatic bleaching of kraft pulp with xylanases. Holzforschung 47: 318-324.
- Kieser, T. 1984. Factors affecting the isolation of cccDNA from *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*. Plasmid, 12: 19-36.
- Kieser, T., and Melton, R.E. 1988. Plasmid pIJ699, a multi-copy positive-selection vector for *Streptomyces*. Gene. 65 : 83-91.
- Kluepfel, D., Shareck, F., Mondou, F., and Morosoli, R. 1986. Characterization of cellulase and xylanase activities of *Streptomyces lividans*. Appl. Microbiol. Technol. 24: 230-234.

- Kubata, B.K., Suzuki, T., Ito, Y., Naito, H., Kawai, K., Takamizawa, K., and Horitsu, H. 1997. Cloning and expression of xylanase I gene (*xynA*) of *Aeromonas caviae* ME-1 in *Escherichia coli*. J. Ferment. Bioeng. 83(3): 292-295.
- Kusakabe, I., Yasui, T., and Kobayashi, T. 1977. The action of the *Streptomyces* xylanase on various xylan and xylooligosaccharide (studies on xylanase system of *Streptomyces* part VIII). J. Agric. Biol. Chem. Soc. Jap. 51(7): 439-448.
- Jeong, K.J., Lee, P.C., Park, I.Y., Kim, M.S., and Kim, S.C. 1998. Molecular cloning and characterization of an endoxylanase gene of *Bacillus* sp. in *Escherichia coli*. Enz. and Microbial Technol. 22: 599-605.
- Lee, J. M. T. 1993. Cloning of xylanase gene from the ruminal fungus *Neocallimastix patriciarum* 27 and its expression in *Escherichia coli*. Can. J. Microbiol. 39: 134-139.
- Lee, Y.E., Lowe, S.E., and Zsikus, J.G. 1993. Gene cloning, sequencing, and biochemical characterization of endoxylanase from *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* B6A-RI. Appl. Environ. Microbiol. 59(9): 3134-3137.
- Li, X.L., and Ljungdahl, L.G. 1994. Cloning, sequencing, and regulation of a xylanase gene from the fungus *Aureobasidium pullulans* Y-2311-1. Appl. Environ. Microbiol. 60(9): 3150-3166.
- Lin, L.L., and Thomson, J.A. 1991. Cloning, sequencing and expression of a gene encoding a 73 kDa xylanase enzyme from the rumen anaerobe *Butyrivibrio fibrisolvens* H17c. Mol. Gen. Genet. 228: 55-61.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Fan, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-272.
- Luthi, E., Love, D.R., McAnulty, J., Wallace, C., Caughey, P.A., Saul, D., Bergquist, P.L. 1990. Cloning, sequence analysis, and expression of genes encoding xylan-degrading enzymes from the thermophilic *Caldocellum saccharolyticum*. Appl. Environ. Microbiol. 56: 1017-1024.
- Magee, R.J., and Kosaric, N. 1985. Bioconversion of hemicellulose. Adv. Biochem. Bioeng. 32: 64-93.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F., and Sambrook, J. 1982. Molecular cloning : a laboratory manual. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Mannarelli, B.M., Evans, S., and Lee, D. 1990. Cloning, sequencing, and expression of a xylanase gene from the anaerobic ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. J. Bacteriol. 172(8): 4247-4254.
- Mondou, F., Shareck, F., Morosoli, R., and Kluepfel, D. 1986. Cloning of the xylanase gene of *Streptomyces lividans*. Gene. 49: 323-329.
- Morosoli, R., Durand, S., and Moreau, A. 1992. Cloning and expression in *Escherichia coli* of a xylanase-encoding gene from the yeast *Cryptococcus albidus*. Gene. 117: 145-150.
- Nakanishi, K., Arai, H., and Yasui, T. 1984. Purification and some properties of xylanase from *Cryptococcus flavus* J. Ferment. Technol. 62(4): 361-369.
- Nakanishi, K., Yasui, T., and Kobayashi, T. 1976. A preliminary experiment on the xylanase production by *Streptomyces* sp.. J. Ferment. Technol. 62(1): 1-6.
- Nakanishi, K., Yokotsuka, K., and Yasui, T. 1987. Induction of membrane bound xylosidase in a *Streptomyces* sp.. J. Ferment. Technol. 62(1): 1-6.
- Nelson, N. 1954. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380.
- O'Neill, R.A., Albersheim, P., and Parvill, A.G. 1989. Purification and characterization of a xyloglucan oligosaccharide-specific xylosidase from pea seedling. J. Biol. Chem. 264(34): 20430-20437.
- Onysko, K.A. 1993. Biological bleaching of chemical pulps: a review: Biotechnol. Adv. 11: 179-198.
- Panbangred, W., Kong, T., Nogoro, S., Shinmyo, A., and Okada, H. 1983. Molecular cloning of the genes for xylan degradation of *Bacillus pumilus* and their expression in *E. 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.
- Patel, B.N., and Ray, R.M. 1994. Production and characterization of a xylanase from *Streptomyces* sp. grown on agriculture waste. World. J. Microbiol. Biotechnol. 10(5): 594-599.

- Pou-Llinas, J., and Driguez, H. 1987. D-Xylose as inducer of the xylan-degrading enzyme system in the yeast *Pullularia pullulans*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 134-138.
- Reese, E.T., Lola, J. E., and Parrish, F.W. 1969. Modified substrate and modified product as inducer of carbohydrase. J. Bacteriol. 100: 1151-1154.
- Ronen, N., Zanberman, G., Akerman, M., Weksler, A., Rot, L., and Fuehs, Y. 1991. Xylanase and xylosidase activities in avocado fruit. Plant. Physiol. 95: 961-964.
- Ruiz-Arribas, A., Sanchez, P., Calvete, J.J., Raida, M., Fernandez-Abalos, J.M., and Santamaria, R. 1997. Analysis of *xysA*, a gene from *Streptomyces halstedii* JM8 that encodes a 45-kilodalton modular xylanase, Xys1. Appl. Environ. Microbiol. 63(8): 2983-2988.
- Saddler, J.N., Yu, E.K.C., Mesh-Hartree, M., Levitin, N., and Brownell, H.H. 1983. Utilization of enzymatically hydrolyzed wood hemicellulose by microorganisms for production of liquid fuels. Appl. Environ. Microbiol. 45(1): 153-160.
- 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.
- Schyns, P.Y.M.J., and Stams, A.J.M. 1992. Xylan degradation of the anaerobic bacterium *Bacteroides xylanolyticus* X5-1. In Visser, J., Baldman, G., Someren, K.A.K.V. and Voragen, A.G.T.(eds.) Progress in Biotechnology. Vol 7. Elsevier Science Publishers, Netherlands. P. 295-300.
- Shao, W., and Wiegel, J. 1992. Purification and Characterization of a thermostable β -Xylosidase from *Thermoanaerobacter ethanolicus*. J. Bacteriol. 174(8): 5848-5853.
- Sipat, A., Taylor, K.A., Lo, R.Y.C., Forsberg, C.W., and Krell, P.J. 1987. Molecular cloning of a xylanase gene from *Bacteroides succinogenes* and its expression in *E. coli*. Appl. Environ. Microbiol. 53: 477-481.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195: 19-23.
- Srivastava, K.C. 1991. Cloning of xylanase gene of *Streptomyces flavogriseus* in *Escherichia coli* and bacteriophage lamda-induced lysis for the release of cloned enzyme. FEM. Microbiol. Letter. 62(2-3): 201-205.

- Tabernero, C., Sanchez-Torres, J., Perez, P., and Santamaria, R. I. 1995. Cloning and DNA sequencing of *xyaA*, a gene encoding an endo- β -1,4- xylanase from an alkalophilic *Bacillus* strain (N137). *61(6)*: 2420-2424.
- Tan, L.U.L., Mayers, P., and Saddler, J.N. 1987. Purification characterization of a thermostable xylanase from a thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus*. Can. J. Microbiol. 33: 689-693.
- Tenkanen, M., Puls, J., Ratto, M., and Viikari, L. 1993. Enzymatic deacetylation of galactoglucomannans. Appl. Microbiol. Biotechnol. 39: 159-165.
- Timell, T.E. 1967. Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. Wood Sci. Technol. 1: 45-70.
- Vats-Mehta, C., Bouvrette, P., Shareck, F., Morosoli, R., and Kluepfel, D. 1990. Cloning of a second xylanase-encoding gene of *Streptomyces lividans* 66. Gene. 86: 119-122.
- Vyas, P., Chauthaiwale, V., Phadatare, S., Deshpande, V., and Srinivasan, M.C. 1990. Studies on the alkalophilic *Streptomyces* with extracellular xylanolytic activity. Biotechnology Letters. 12(3): 225-228.
- Weinstein, L., and Albersheim, P. 1979. Structure of plant cell walls. Plant Physiol. 63: 425-432.
- Whistler, R.H.A., and Richards, E.L. 1970. Hemicellulose In The Carbohydrates. Edited by Pigman, W., and Horton, D. New York : Academic Press. pp 447- 469.
- 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: 2408-2412.
- Wong, K.K.Y., and Saddler, J.N. 1992. *Trichoderma* xylanases. Their properties and application. In Visser, J., Beldman, G., Kuster, M.A.V.S. and Voragen, A.G.T. (eds) Progress in Biotechnology. Vol. 7, Elsevier Science Publishers. Netherland. p. 171-186.
- Wu, S.C., Kaufman, S., Darvill, A.G., and Albersheim, P. 1994. Purification, cloning, and characterization of two xylanases from *Magnaporthe grisea* the rice blast fungus. Mol. Plant-Microbe Interact. 8: 506-514.

- Yang, R.C.A, MacKenzie, C.R., Bilous, D., and Narang, S.A. 1989a. Identification of two distinct *Bacillus circulans* xylanases by molecular cloning of the genes and expression in *E.coli*. Appl. Environ. Microbiol. 55: 568-572.
- Yang, R.C.A, MacKenzie, C.R., Bilous, D., and Narang, S.A. 1989b. Hyperexpression of *Bacillus circulans* xylanases genes in *E.coli* and characterization of gene product. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1192-1195.
- Zappe, H., Jones, D.T., and Woods, D.R. 1987. Cloning and expression a xylanase gene from *Clostridium acetobutylicum* P262 in *E. coli*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 57-63.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสูตร MS (อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต , 2533)

มานิทอล (manitol)	20	กรัม
ถั่วเขียวบดละเอียด	20	กรัม
วุ้น (agar)	18	กรัม

เติมน้ำประปาและน้ำกลั่น 2 ส่วน เท่าๆกันจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ก.2 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YEME (Hopwood et al., 1965)

ซูโครส (sucrose)	340	กรัม
กลูโคส (glucose)	10	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	3	กรัม
มอลต์เอ็กซ์แทรก (malt extract)	3	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2 \cdot 7H_2O$)	1.15	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ก.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Luria Bertani (LB)ก.3.1 สำหรับ *E. coli* (Maniatis et al., 1982)

ทริปโตน (tryptone)	10	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	10	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เท่ากับ 7.0 สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (LA) เติมวุ้น (agar) อีก 1.5 กรัม

กรณีที่ต้องเลี้ยง *E. coli* ที่มีพลาสมิด pUC18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ LA ต้องใส่ x-gal และ IPTG ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LA ขณะที่มีความเข้มข้นประมาณ 55 องศาเซลเซียส ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ x-gal เป็น 50 ไมโครกรัม/มล. และ IPTG เป็น 24 ไมโครกรัม/มล. โดยเตรียมสารละลาย x-gal ตั้งต้นเข้มข้น 50 มก./มล. ในสารละลาย dimethylformamide ส่วน IPTG ละลายในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ แล้วทำไดฟฟิวสชันโดยกรองผ่านเยื่อกรอง (millipore membrane)

n.3.2 สำหรับ *Streptomyces* (Hopwood *et al.*, 1985)

กลูโคส (glucose)	1	กรัม
ทริปโตน (tryptone)	10	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

n.4 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับตรวจคุณสมบัติของไซแลนส จากสุมาลี อังใจธรรม. 2539 ซึ่งดัดแปลงจาก Nakanishi และคณะ (1984)

ไซแลน (xylan)	10	กรัม
คอร์นสตีพ ลิกัวร์ (cornsteep liquor)	5	กรัม
พอลิเพปโตน (polypeptone)	5	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	1	กรัม
ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	4	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	1	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.02	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับ 9.0

n.5 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับปริเจนเนอเทปโปรโตทาลาสท์ R2YE (Hopwood *et al.*, 1985)

ส่วนที่ 1 R2A

กลูโคส (glucose)	20	กรัม
กรดอะมิโนจากเคซีน (casamino acids)	0.2	กรัม
โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2 \cdot 7H_2O$)	20.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	5.9	กรัม
วุ้น (agar)	44	กรัม
trace element solution*	4	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

*trace element solution

ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	40	มก.
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	200	มก.
คอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$)	10	มก.
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)	10	มก.
โซเดียมเตตระโบรเอท ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)	10	มก.
แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$)	10	มก.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

ส่วนที่ 2 R2B

ซูโครส (sucrose)	203	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	10	กรัม
TES (N-tris (hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane sulfonic acid)	11.5	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

หลังจากนี้บ่มมาเชื้อแล้ว ผลผสมส่วนที่ 1 และ 2 ปริมาตรเท่าๆกัน แล้วเติม 0.5%

โปดัลเทียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 มล./สารละลาย 200 มล.

ก.6 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับตรวจสอบแอกติวิตีของไซแลนเนส (อรินทิพย์ อรรณชัยพิเนต, 2533)

ไซแลน (xylan)	8	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรก (yeast extract)	10	กรัม
ไดโปดัลเทียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	4	กรัม
โปดัลเทียมคลอไรด์ (KCl)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.02	กรัม
วุ้น (agar)	20	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เท่ากับ 7.0

ภาคผนวก ข

บัฟเฟอร์ และ สารเคมี

ข.1	บัฟเฟอร์ P (Hopwood <i>et al.</i> , 1985)		
	ซูโครส (sucrose)	103	กรัม
	โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	0.25	กรัม
	แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2 \cdot 7H_2O$)	2.02	กรัม
	trace element solution (ภาคผนวก ก4)	2	มล.
	เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 800 มล. หลังจากนั้นฆ่าแล้วเติม		
	0.5% โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1	มล.
	3.68% แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	10	มล.
	5.73% TES (N-tris(hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane sulfonic acid)	10	มล.
ข.2	สารละลายสำหรับไลโซไซม์ (lysozyme solution) (Kieser, 1984)		
	ซูโครส (sucrose)	0.3	โมลาร์
	ทริสมาเบส (tris base, pH 8.0)	25	มิลลิโมลาร์
	EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid, pH 8.0)	25	มิลลิโมลาร์
ข.3	บัฟเฟอร์ TE (Maniatis, <i>et al.</i> , 1982)		
	ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (Trisma-HCl)	10	มิลลิโมลาร์
	EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	1	มิลลิโมลาร์
ข.4	ฟีนอลคลอโรฟอร์ม (Maniatis, <i>et al.</i> , 1982)		
	ฟีนอล (phenol)	5	กรัม
	คลอโรฟอร์ม (chloroform)	5	มล.
	น้ำกลั่น	1	มล.
	ไฮดรอกซีควิโนลีน (8-hydroxyquinoline)	5	มก.

ข.5 สารละลายสำหรับสกัดพลาสมิดปริมาณน้อยจาก E.coli (Maniatis, et al., 1982)

สารละลาย I

กลูโคส	50	มิลลิโมลาร์
ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (Trisma-HCl, pH8.0)	25	มิลลิโมลาร์
EDTA (etylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	10	มิลลิโมลาร์

สารละลาย III

5 โมลาร์ โปตัสเซียมอะซิเตท	60	มล.
กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid)	11.5	มล.
น้ำกลั่น	28.5	มล.

ข.6 ชุดสกัดแยกพลาสมิด QIA prep.Spin Plasmid Miniprep ประกอบด้วย

- P1 Buffer
- P2 Buffer
- N3 Buffer
- PE (10 mM Tris HCl ,pH 8.5)
- QIA prep.Spin column

ข.7 บัฟเฟอร์ TA (tris-acetate buffer)

เตรียมเข้มข้น 5 เท่า

ทริสมาเบส (Trisma base)	24.2	กรัม
กรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid)	5.71	มล.
0.5 โมลาร์ EDTA (etylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)	10	มล.

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ก่อนใช้เจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 เท่า

ข.8 สียติดตาม (tracking dye)

เตรียมเข้มข้น 5 เท่า

ซูโครส (sucrose)	60	เปอร์เซ็นต์
โบรโมฟีนอลบลู	0.25	เปอร์เซ็นต์

ทริสมาไฮโดรคลอไรด์ (Trisma-HCl) (pH 8.0)	100	มิลลิโมลาร์
Na ₂ EDTA (etylenediaminetetraacetic acid) (pH 8.0)		
	0.5	มิลลิโมลาร์
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	100	มิลลิโมลาร์

ข.9 ชุดแยกแอมป์เอ็นเอออกจากเจล QIAquick Gel extraction kit ประกอบด้วย

- QG (solubilization buffer)
- PE (wash buffer)
- EB (elution buffer)
- 3 M โซเดียมอะซิเตท
- QIAquick spin column

ข.10 25% polyethylene glycol (PEG)

ซึ่ง PEG (น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1000) 1 กรัม นำไปนึ่งมาเชื้อ ก่อนใช้เติมบัฟเฟอร์ P ปริมาตร 3 มล. จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที

ข.11 อัลคาไลน์ คอปเปอร์ รีเอเจนท์ (alkaline copper reagent)

ละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na₂HPO₄·12H₂O) 71 กรัม และโรเชลล์ ซอลท์ (Rochelle salt) 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล 100 มล. แล้วเติมสารละลายของคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO₄·5H₂O) ความเข้มข้น 10% 80 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วทำให้ร้อน จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต (Na₂SO₄) จำนวน 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรงออกแล้วจึงนำไปใช้

ข.12 เนลสัน รีเอเจนท์ (Nelson reagent)

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O) 53.2 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มล. แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 21 มล. ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายของโซเดียมอาซิเนท (NaHASO₄·7H₂O) ความเข้มข้น 12% 50 มล. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรงออกแล้วจึงนำไปใช้

ข.13 สารละลายสำหรับวิเคราะห์โปรตีนตามวิธีของ Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

Lowry A

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	60	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	12	กรัม
โซเดียมโปตัสเซียมทาร์เทรท ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.6	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 3 ลิตร

Lowry B

คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4)	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

Lowry C

Lowry A	50	ส่วน
Lowry B	1	ส่วน

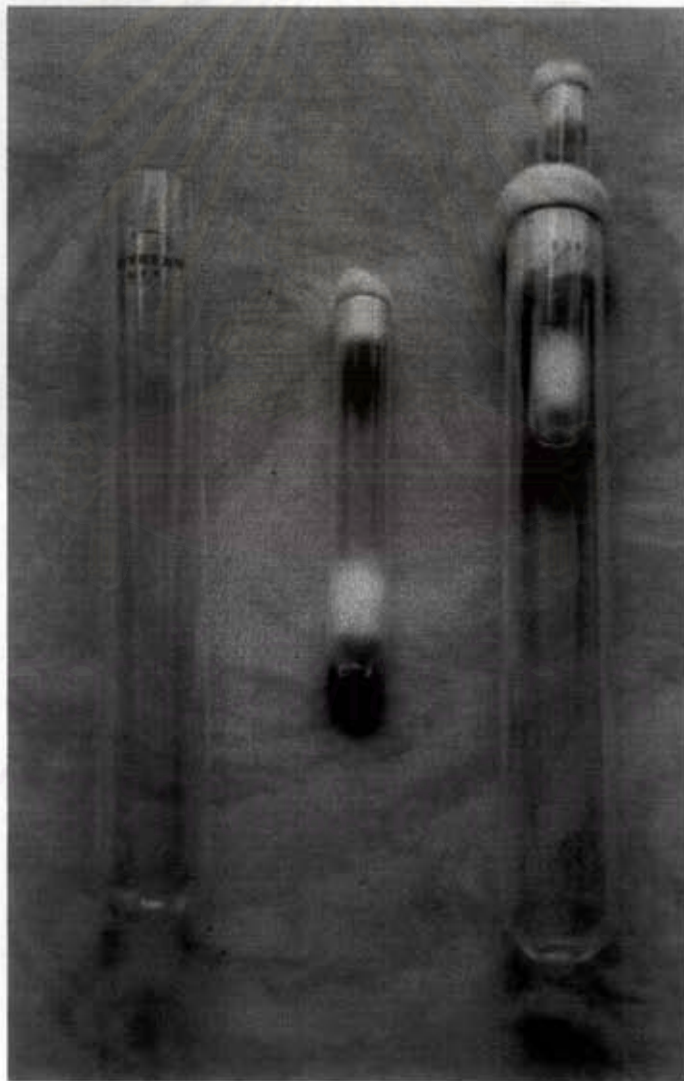
Lowry D (phenol reagent)

สารละลาย Folin phenol reagent	1	ส่วน
น้ำกลั่น	1	ส่วน

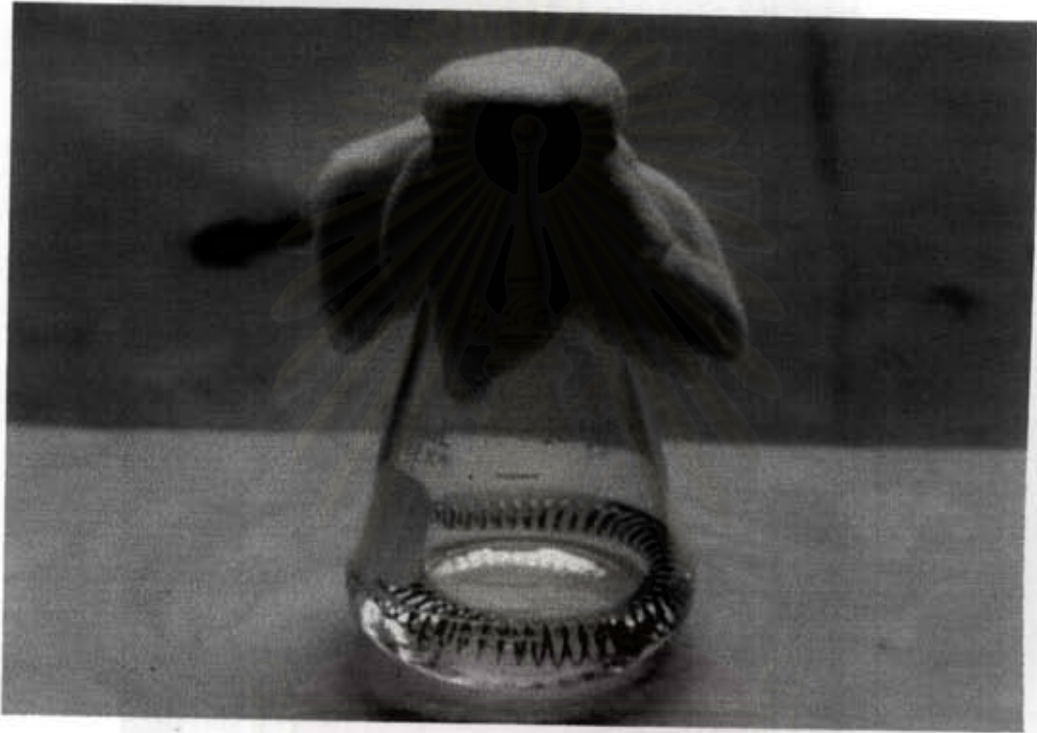
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

อุปกรณ์อื่นๆ

ค.1 ชุดกรองสปอร์และโปรโตพลาสต์สำหรับ *Streptomyces*

ค.2 ลักษณะการวางตัวของสปริงที่ก้นขวดสำหรับภาวะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.3 เครื่อง electroporation



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นาย เฉลิมพล คุ่มพิทักษ์ เกิดเมื่อวันที่ 4 พฤศจิกายน 2515 ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2537 และเข้ารับการศึกษาคือในระดับปริญญาโท สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2538



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย