รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

มาตรการบังคับใช้สิทธิเหนือสิทธิบัตรยา.http://www.positioningmag.com/prnews/prnews aspx?id=57401 [Online]. Available from: [2007, December 17]

ภาษาอังกฤษ

Ashidi, J.S., Houghton, P.J., Hylands, P.J., Sieber, S., and Efferth, T. 2007. Molecular mechanism of action of the flavanone pinostrobin from *Cajanus cajan* leaves in cancer cells. Planta Med. 73: 797–1034.

Bach, S., Talarek, N., Andrieu, T., Vierfond, JM., Mettey, Y., Galons, H., Dormont, D., Meijer, L., Cullin, C., and Blondel, M. 2003. Isolation of drugs active against mammalian prions using a yeast-based screening assay. Nat Biotechnol. 21(9):1075-81.

Becker, F., Murthi, K., Smith, C., Come, J., Costa-Roldán, N., Kaufmann, C., Hanke, U., Degenhart, C., Baumann, S., Wallner, W., Huber, A., Dedier, S., Dill, S., Kinsman, D., Hediger, M., Bockovich, N., Meier-Ewert, S., Kluge, AF., and Kley, N. 2004. A three-hybrid approach to scanning the proteome for targets of small molecule kinase inhibitors. Chem Biol. 11(2):151-3.

Bharmapravati, S., Mahady, GB., and Pendland, SL. 2003. In *vitro* susceptibility of *Helicobacter pyroli*i to extracts of *Boesenbergia pandurata* and pinostradin. The 3 rd World Congress on Medicinal plants and Aromatic plants for Human Welfare, Chiang Mai, Thailand.

Bhat, V.R., Haeberlein, S.L.B., and Avila, J. 2004. Glycogen synthase kinase 3: a drug target for CNS therapies. J Neurochem. 89(6):1313-7.

Bi, E., and Pringle, JR. 1996. *ZDS1* and *ZDS2*, Genes whose products may regulate Cdc42p in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Cell. Biol. 16: 5264–5275.

Bohlmann, F., and Abraham, W.R. 1979. Neue Diterpene au s *Helichrysum acutatum*. Phytochemistry. 18:1754-1756.

Booher, R.N., Deshaies, R.J., and Kirschner M.W. 1993. Properties of *Saccharomyces cerevisiae* wee1 and its differential regulation of p34CDC28 in response to G1 and G2 cyclins. EMBO J. 12: 3417-3426.

Botstein, D., Chervitz, S. A., and Cherry, J. M. 1997. Yeast as a Model Organism. Science. 277:1259 – 1260.

Burke, B., and Nair, M. 1986. Phenylpropene, benzoic acid and flavonoid derivatives from fruits of Jamaican Piper species. Phytochemistry. 25(6):1427-1430.

Burke, D., Dawson, D., and Stearns, T. 2000. Methods in Yeast Genetics: A Cold Spring Harbor Laboratory Course Manual. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Clapham, DE. 1995. Calcium signling. Cell. 80; 259-268.

Colony Cracking: Quick Test for Inserts in Plasmids. http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/seika/shiraishi/protocols/cracking.html. [Online]. Available from: [2007, August 25]

Cunningham, K.W., and Fink, G.R. 1996. Calcineurin inhibits VCX1-dependent H^+/Ca^{2+} exchange and induces Ca^{2+} ATPases in Saccharomyces cerevisiae. Mol Cell Biol. 16(5): 2226–2237.

Dowell, S.J.,and Brown, A.J. 2002. Yeast assays for G-protein-coupled receptors. Receptors Channels. 8:343–352.

Drews, J. 1996. Genomic sciences and the medicine of tomorrow. Nat Biotechnol. 14:1516–1518

Duan, W., Chan, JH., Wong, C.H., Leung, B.P., and Wong, W.S. 2004. Anti-Inflammatory Effects of Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Inhibitor U0126 in an Asthma Mouse Model. J Immunol. 172(11):7053-9.

Fahey, J.W., and Stephenson, K.K. 2002. Pinostrobin from honey and thai ginger (*Boesenbergia pandurata*): a potent flavonoid inducer of mammalian phase 2 chemoprotective and antioxidant enzymes. J. Agric. Food Chem. 50(25): 7472 - 7476.

Garrett-Engele, P.,Moilanen, B., and Cyert, M.S. 1995. Calcineurin, the Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein phosphatase, is essential in yeast mutants with cell integrity

สำนักงานคณะกรรมการ ห้องสมุดงานวิจัย

defects and in mutants that lack a functional vacular H^+ ATPase. Mol Cell Biol. 15(8):4103-4114.

Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J. D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E. J., Mewes, H. W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., and Oliver, S. G. 1996. Life with 6000 genes. Science 274:546-567.

Hossian, MA., Roy, B.K., Ahmed, K., Chowdhury, A.D.S. and Rashid, M.A. 2007. Antidiabetic Activity of *Andrographis paniculata*. Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 6(1): 15-20.

Hartwell, L.H. 2002. Yeast and cancer. Biosci. Rep. 22:373–394.

Hartwell, L.H. 2004. Yeast and cancer. Biosci. Rep. 24:523-544.

Heitman, J., Movva , N.R., and Hall, M.N. 1991. Targets for cell cycle arrest by the Immunosuppressant rapamycin in yeast. Science 253:905-909.

Hughes, TR. 2001. Yeast and drug discovery. Funct Intergr Genomic 2:199-211.

Itokawa, H., Morita, M., and Mihashi, S. 1981. Phenolic compounds from the rhizomes of *Alpinia speciosa*. Phytochemistry. 20(11): 2503-2506.

Jaipetch, T., Kanghae, S., Pancharoen, O., Patrick, V.A., Reutrakul, V., Tuntiwachwuttikul, P., and White, A.H. 1982. Constituents of *Boesenbergia pandurata*. Aust. J. Chem. 35: 351-361.

Jantan, I., Pisar, M., Sirat, H.M., Basar, N., Jamil, S., Ali, R.M., and Jalil, J. 2004. Inhibitory effects of compounds from Zingiberaceae species on platelet activating factor receptor binding. Phytother Res. 18(12):1005-7.

Kassir, Y., Rubin-Bejerano, I., and Mandel-Gutfreund, Y. 2006. The Saccharomyces cerevisiae GSK-3 beta homologs. Curr Drug Targets. 7(11):1455-65.

Kobayashi, Y., Mizunuma, M., Osada, H., and Miyakawa, T. 2006. Identification of Saccharomyces cerevisiae ribosomal protein L3 as a target of curvularol, a G1-specific inhibitor of mammalian cells. Biosci Biotechnol Biochem. 70(10):2451-9

Kumar, A., Harrison, PM., Cheung, K-H., Lan, N., Echols, N., Bertone, P., Miller, P., Gerstein, MB., and Snyder, M. 2002. An integrated approach for finding overlooked genes in yeast. Nat. Biotechnol. 20:58-63.

Kurtz, S., Luo, G., Hahnenberger, K.M., Brooks, C., Gecha, O., Ingalls, K., Numata, K., and Krystal, M. et al. 1995. Growth impairment resulting from expression of influenza virus M2 protein in Saccharomyces cerevisiae: identification of a novel inhibitor of influenza virus. Antimicrob. Agents Chemother. 39: 2204–2209.

Lac Z Liquid Assay for Yeast. http://130.15.90.245/lac_z_liquid_assay_for_yeast.htm [Online]. Available from: [2007, August 25]

Li, Y.J. and Du, G.H. 2004. Effects of alpinetin on rat vascular smooth muscle cells. J Asian Nat Prod Res. 6(2):87-92.

López, A., Ming, D.S., and Towers GH. 2002. Antifungal activity of benzoic acid derivatives from Piper lanceaefolium. J Nat Prod. 65(1):62-64

Mager, W.H., and Winderickx, J. 2005. Yeast as a model for medical and medicinal research. Trends Pharmacol. Sci. 26(5): 265-273.

Means, AR. 1994. Calcium, calmodulin and cell cycle regulation. FEBS Lett.347(1):1-4.

Middendorp, O., Ortler, C., Neumann, U., Paganetti, P., Lüthi, U., and Barberis, A. 2004.Yeast growth selection system for the identification of cell-active inhibitors of beta-secretase. Biochim. Biophys. Acta. 1674, 29–39

Mizunuma, M., Hirata, D., Miyahara, K., Tsuchiya, E., and Miyakawa, T. 1998. Role of calcineurin and Mpk1 in regulating the onset of mitosis in budding yeast. Nature. 392: 303-306

Mizunuma, M., Hirata, D., Miyaoka, R., and Miyakawa, T. 2001. GSK-3 kinase Mck1 and calcineurin coordinately mediate Hsl1 down-regulation by Ca^{2+} in budding yeast. EMBO J. 20(5): 1074–1085.

Mongkolsuk, S., and Dean, F.M. 1964. Pinostrobin and alpinetin from Kaempferia pandurata. J. Chem. Soc. 4654–4655.

Nakamura, T., Ohmoto, T., Hirata, D., Tsuchiya, E., and Miyakawa, T. 1996. Genetic evidence for the functional redundancy of the calcineurin and Mpk1-mediated pathways in the regulation of cellular events important for growth in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Gen. Genet. 251:211–219

Nikoulina, S.E., Ciaraldi, T.P., Mudaliar, S., Mohideen, P., Carter, L., and Henry, R.R. 2000. Potential role of glycogen synthase kinase-3 in skeletal muscle insulin resistance of type 2 diabetes. Diabetes. 49:263–271.

Perkins, E., Sun, D., Nguyen, A., Tulac, S., Francesco, M., Tavana, H., Nguyen, H., Tugendreich, S., Barthmaier, P., Couto, J., Yeh, E., Thode, S., Jarnagin, K., Jain, A., Morgans, D.,and Melese, T. 2001. Novel inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase/PARP1 and PARP2 identified using a cell-based screen in yeast. Cancer Res. 61:4175–4183

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

Sche, P.P., McKenzie, K.M., White, J.D., and Austin, D.J. 1999. Display cloning: functional identification of natural product receptors using cDNA-phage display. Chem. Biol. *6*, 707–716.

Sebolt-Leopold, J.S., Dudley, D.T., Herrera, R., Van Becelaere, K., Wiland, A., Gowan, RC., Tecle, H., Barrett, SD., Bridges, A., Przybranowski, S., Leopold, WR., and Saltiel AR. 1999. Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors *in vivo*. Nature Med. 5:81–816.

Shitamukai A., Mizunuma M., Hirata D., Takahashi H., Miyakawa, T. 2000. A Positive Screening for Drugs that Specifically Inhibit the Ca^{2+}-Signaling Activity on the Basis of the Growth Promoting Effect on a Yeast Mutant with a Peculiar Phenotype. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64(9): 1942-1946.

Smolarz, H.D., Mendyk, E., Bogucka-Kocka, A., and Kocki, J. 2006. Pinostrobin--an anti-leukemic flavonoid from *Polygonum lapathifolium* L. ssp. nodosum (Pers.) Dans. J. Biosci. 61(1-2): 64-8.

Sugiura, R., Sio, S.O., Shuntoh, H., and Kuno, T. 2002. Calcineurin phosphatase in signal transduction: lesson from fission yeast. Genes Cells. 7: 619-627

Tanaka, H., Ohshima, N., and Hidaka, H. 1999. Isolation of cDNAs encoding cellular drug-binding proteins using a novel expression cloning procedure: drug-western. Mol. Pharmacol. *55*, 356–363.

Tanaka, T., Ichino, K., and Ito, K. 1985. A novel flavanone, linderatone, from *Lindera umbellata*. Chem. Pharm. Bull. 33(6): 2602-2604.

Trakoontivakorn, G., Nakahara, K., Shinmoto, H., Takenaka, M., Onishi-Kameyama, M., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., and Tsushida, T. 2001. Structural analysis of a novel antimutagenic compound, 4-Hydroxypanduratin A, and the antimutagenic

activity of flavonoids in a Thai spice, fingerroot (*Boesenbergia pandurata Schult.*) against mutagenic heterocyclic amines. J Agric Food Chem. 49(6):3046-50.

Tutulan-Cunita, A.C., Ohnishi, T., Mizunuma, M., Hirata, D., and Miyakawa, T. 2005. Involvement of Saccharomyces cerevisiae Pdr5p ATP-binding cassette transporter in calcium homeostasis. Biosci Biotechnol Biochem. 69(4):857-60.

Wach, A., Brachat, A., Pöhlmann, R., and Philippsen, P. 1994. New heterologous modules for classical or PCR-based gene disruptions in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast. 10:1793–1808.

Wu, D., Nair, M.G., and DeWitt, D.L. 2002. Novel compounds from Piper methysticum Forst (Kava Kava) roots and their effect on cyclooxygenase enzyme. J Agric Food Chem. 50(4):701-705.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria-Bertani (LB broth)

Tryptone	10.0 กรัม
Yeast extract	5.0 กรัม
NaCl	5.0 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB agar)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ละลายอะการ์ 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2YT (2YT broth)

Tryptone	16.0 กรัม
Yeast extract	10.0 กรัม
NaCl	5.0 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 7.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** Yeast peptone dextrose (YPD)

Yeast extract	10	กรัม
Peptone	20	กรัม
Glucose	20	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 4.5 และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

5. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** Yeast peptone adenine uracil dextrose (YPAUD)

Yeast extract	10	กรัม
Peptone	20	กรัม
Glucose	20	กรัม
Adenine	400	มิลลิกรัม
Uracil	200	มิลลิกรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

6. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง** Yeast peptone adenine uracil dextrose (YPAUD agar)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPAUD ละลายอะการ์ 20 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

7. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง** Yeast peptone adenine uracil dextrose soft agar (YPAUD soft agar)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ละลายอะการ์ 7 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

8. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** synthetic complete medium (SC medium)

Yeast nitrogen base without amino acid	6.7 กรัม
Glucose	20 กรัม
10 x amino acid without uracil	100 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 4.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

9. **อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง** Synthetic complete medium (SC medium agar)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SC medium ละลายอะการ์ 20 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

10. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** SG medium

Yeast nitrogen base without amino acid	6.7 กรัม
Galactose	20 กรัม
10 x amino acid without uracil	100 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 4.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

11. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** 1% Raffinose SC medium

- Yeast nitrogen base without amino acid 6.7 กรัม

raffinose	10 .0	กรัม
10 x amino acid without uracil	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 4.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

12. **อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว** 20% Galactose SC medium

Yeast nitrogen base without amino acid	6.7	กรัม
Galactose	200.0	กรัม
10 x amino acid without uracil	100.0	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เป็น 4.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

13. **10 x amino acid without uracil**

Adenine sulfate	200	มิลลิกรัม
L-Tryptophan	200	มิลลิกรัม
L-Histidine HCl	200	มิลลิกรัม
L-Argine HCl	200	มิลลิกรัม
L-Methionine	200	มิลลิกรัม
L-Tryosine	300	มิลลิกรัม
L-Leucine	1000	มิลลิกรัม
L-Isoleucine	300	มิลลิกรัม
L-Lysine HCl	300	มิลลิกรัม
L-Phenylalanine	500	มิลลิกรัม
L-Glutamic acid	1000	มิลลิกรัม
L-Aspartic acid	1000	มิลลิกรัม

L-Valine	1500	มิลลิกรัม
L-Threonine	2000	มิลลิกรัม
L-Serine	4000	มิลลิกรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. กลีเซอรอล

นำกลีเซอรอลมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบหนึ่ง

2. สารปฏิชีวนะ

ละลายแอมพิซิลลิน 100 มิลลิกรัมในน้ำ 1 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองสารละลายผ่านชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซีเตทขนาดรูกว้าง 0.45 ไมโครเมตร เก็บรักษาไว้ในหลอดไมโครฟิวจ์ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาใช้แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 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 องศาเซลเซียส และเติมเอธานอลปริมาตร 24 มิลลิลิตร 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 องศาเซลเซียส ปริมาตร 80 มิลลิลิตร เมื่อละลายหมดเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อครั้งแรกแล้วจะไม่สามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำได้อีก เพราะสารละลาย SDS จะเสียสภาพ

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

Trisma base ($C_4H_{11}NO_3$)	121.1	กรัม
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น	42	มิลลิลิตร

ละลาย Trismabase ในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

6. 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 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ คนให้เข้ากันรอให้เย็นลงแล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นให้เป็น 8.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อ ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

7. 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 มิลลิลิตร เข้ากับสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

8. **บัฟเฟอร์** 50X Tris-acetate (TAE)

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

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

9. High extraction buffer

Tris-HCl, pH 8.0	250	มิลลิโมลาร์
สารละลาย EDTA, pH 8.0	50	มิลลิโมลาร์
สารละลายโซเดียมคลอไรด์	125	มิลลิโมลาร์
น้ำปลอดประจุ		

10. **สารละลายฟีนอล** (phenol)

นำฟีนอลในรูปเกล็ดของแข็งมาหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมผงไฮดรอกซีควิโนลีน ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1% แล้วเติม Tris-HCl เข้มข้น 1 โมลาร์

ความเป็นกรด-ด่างเป็น 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 องศาเซลเซียส ในขวดสีชาที่ปิดฝาแน่น

11. สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เป็น 25 : 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

12. สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

13. Loading dye

Bromphenolblue	0.025 %
ซูโครส	40 %

ละลายส่วนผสมในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

14. สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE

ละลายผงเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทในที่มืด

15. สารละลายโซเดียมอะซีเตท เข้มข้น 3 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.2

ละลายโซเดียมอะซีเตท น้ำหนัก 204 กรัม ในน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรประมาณ 400 มิลลิลิตร นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.2 ด้วยกรดอะซีติกปริมาตรประมาณ 57 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดประจุให้ได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

16. สารละลายโปรตีเนสเค (proteinase K) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 20 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

17. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

18. 70% เอธานอล

99% เอธานอล	700	มิลลิลิตร
น้ำกลั่นปลอดประจุ	300	มิลลิลิตร

19. **อะกาโรสเจลเข้มข้น** 1.0%

อะกาโรสเจล	1	กรัม
บัฟเฟอร์ TAE เข้มข้น 50 เท่า	100	มิลลิลิตร

หลอมให้เข้ากันด้วยไมโครเวฟหรือการต้มให้ความร้อน

20. **สารละลาย** 50% PEG

ผสมสารละลาย PEG 50 มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

21. **สารละลาย** carrier DNA **ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

ละลาย ดีเอ็นเอที่มีมวลโมเลกุลสูง(Deoxyribonuclei acid Sodium salt Type III from salmon testes) น้ำหนัก 2 มิลลิกรัมในน้ำให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

22. **สารละลาย** PI **ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

ละลายผง Propidium Iodide น้ำหนัก 4 มก. ในน้ำปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

23. **สารละลาย** ONPG **ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

ละลายผง ONPG น้ำหนัก 4 มก. ใน z buffer ให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

24. Z buffer

$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	16.1	กรัม
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	5.5	กรัม
KCl	0.75	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.246	กรัม
ß-Mercaptoethanol	2.7	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มิลลิลิตรปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยให้เป็น 7.0 เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

25.สารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 1 โมลาร์

ละลายผง Na_2CO_3 น้ำหนัก 105.99 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายวชิรศักดิ์ วังกังวาน เกิดเมื่อวันที่ 16 ตุลาคม พ.ศ. 2525 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2546 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547

ผลงานทางวิชาการ

Wangkangwan, W., Chavasiri, W., Kongkathip, N., Miyakawa, T. and Yompakdee, C. Screening and some characterizations on bioactive compounds from thai medicinal plants using yeast as a screening system: I. system optimization.The 18th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, 2-3 November 2006. The Montien Riverside Hotel Bangkok, Thailand. p.137