สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร	3
1.3 วัตถุประสงค์	33
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	34
2.1 วัสดุ	34
2.2 อุปกรณ์เครื่องใช้ในการทดลอง	38
2.3 วิธีการทดลอง	39
2.3.1 การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi*	39
2.3.2 การโคลนจีน *gyrB* เข้าสู่ *E. coli* 913	43
2.3.3 การหาลำดับดีเอนเอของจีน *gyrB* (DNA sequencing)	48
2.3.4 การออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อ *V. harveyi*	50
2.3.5 การทดสอบความไวของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสในการบ่งชี้เชื้อ *V. harveyi*	52
2.3.6 การบ่งชี้เชื้อ *V. harveyi* โดยการเพิ่มจำนวนดีเอนเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสจากอาหารทะเล	54

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 ผลการทดลอง	56
4 วิจารณ์ผลการทดลอง	75
5 สรุปผลการทดลอง	79
เอกสารอ้างอิง	80
ภาคผนวก	99
ประวัติผู้เขียน	116

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 คุณลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *V. harveyi* (Baumann and Schubert, 1984)	9
3.1 ผลการเปรียบเทียบลำดับเบสของจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi* กับเชื้อ Vibrio ชนิดอื่นๆในธนาคารจีน (Gene bank)	62
3.2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากลำดับเบสของจีน *gyrB* ในเชื้อ *V. harveyi*	65
3.3 จำนวนคู่ไพร์เมอร์ที่นำมาทดสอบการบ่งชี้ในเชื้อ *V. harveyi*	66
3.4 ผลการบ่งชี้เชื้อ Vibrio ชนิดต่างๆด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยอาศัยไพรเมอร์ที่ออกแบบจากจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi*	67
3.5 การบ่งชี้เชื้อ *V. harveyi* ที่แยกจากอาหารทะเลตามลักษณะทางชีวเคมี	72
3.6 ผลการยืนยันเชื้อ *V. harveyi* ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยไพรเมอร์ A_2B_3	73
3.7 เปรียบเทียบผลการยืนยันเชื้อ *V. harveyi* ทางชีวเคมีกับวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์ A_2B_3	74

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1.1 กลไกและจีนที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเรืองแสง	13
1.2 การจำลองดีเอนเอ (DNA replication)	21
1.3 ไดอะแกรมแสดงปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	24
2.1 พลาสมิดดีเอนเอ พี เจ็ม ที อี ซี (pGem – T easy)	45
2.2 ขั้นตอนการโคลนดีเอนเอของจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi*	46
2.3 ขั้นตอนการศึกษาความไวของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสในการชี้บ่งเชื้อ *V. harveyi*	53
3.1 ผลการเพิ่มจำนวนจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi* โดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสกับไพรเมอร์ UP-1 และ UP-2r	57
3.2 ผลการเพิ่มจำนวนจีน *gyrB* ของเชื้อ *V. harveyi* กับพลาสมิด pGem – T easy ขนาด 1,200 คู่เบส โดยการโคลนเข้าเชื้อ *E. coli* 913	58
3.3 ลำดับเบสของจีน *gyrB* ทั้งหมดของเชื้อ *V. harveyi* จำนวน 1,174 คู่เบส	59
3.4 ความจำเพาะของไพรเมอร์ A_2B_3 เมื่อทดสอบกับ *V. harveyi* และ*Vibrio* spp.	68
3.5 ความไวของไพรเมอร์ A_2B_3 ในการบ่งชี้เชื้อ *V. harveyi* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	69

ตัวย่อและสัญลักษณ์

µl	=	microlitre
µM	=	micromolar
pmole	=	picomole
bp	=	base pair
kb	=	kilobase
ml	=	mililitre
A	=	adenosine
C	=	cytosine
T	=	thymidine
G	=	guanine
ATP	=	adenosine triphosphate
gyrB	=	gyrase B
DNA	=	deoxyribonucleic acid
RNA	=	ribonucleic acid
RNase	=	ribonuclease
Tris	=	Tris(hydroxyl methyl) aminomethane
PCR	=	polymerase chain reaction
°C	=	degree celcieus
kDa	=	kilodalton
OD	=	optical density
Taq	=	*Thermus aquaticus*
pH	=	hydrogen ion concentration
%	=	persentage
TCBS	=	thiosufate citrate bile salt sucrose agar
LA	=	Luria Bertani agar

SWC = seawater complex agar

LM = Luminous medium agar

VHA = Vibrio harveyi agar