การโคลนยีนโปรตีเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR25 สู่ *Escherichia coli* ด้วยระบบหลอมกับจีเอสทียีน

นางสาว กัลยกร วงศ์กาฬสินธุ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-637-122-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CLONING OF PROTEASE GENE FROM *Bacillus subtilis* TISTR 25 TO *E. coli* BY GST GENE FUSION SYSTEM

Miss Kalyakorn Wongkalasin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillments of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology
Program of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1997

ISBN 974-637-122-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การโคลนยีนโปรตีเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR25 สู่ *Escherichia coli* ด้วยระบบหลอมกับจีเอสทียีน
โดย	นางสาวกัลยกร วงศ์กาฬสินธุ์
สาขาวิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นภา ศิวรังสรรค์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิไล อโนมะศิริ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทิพาพร ลิมปเสนีย์)

....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นภา ศิวรังสรรค์)

....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิไล อโนมะศิริ)

....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร สิทธิประณีต)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

กัลยกร วงศ์กาฬสินธุ์ : การโคลนยีนโปรตีเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR25 สู่ *Escherichia coli* ด้วยระบบหลอมกับจีเอสทียีน (CLONING OF PROTEASE GENE FROM *Bacillus subtilis* TISTR25 TO *E. coli* BY GST GENE FUSION SYSTEM)
อ. ที่ปรึกษา : ผศ. นภา ศิวรังสรรค์,อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. วิไล อโนมะศิริ ; 114 หน้า.
ISBN 974-637-122-3.

เมื่อโคลนโครโมโซมอลดีเอ็นเอจาก *Bacillus subtilis* TISTR25 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากดินในประเทศไทยสามารถผลิตทั้งนิวทรัลและแอลคาไลน์โปรตีเอส เข้าสู่ *Escherichia coli* HB101 โดยอาศัยพาหะดีเอ็นเอ pGEX-2T ของระบบ GST Gene Fusion ทำให้เซลล์เจ้าบ้านสามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเอสที่อยู่ในรูป fusion protein ทำการคัดเลือกทรานสฟอร์แมนท์ด้วยการเลี้ยงบนจานอาหารที่มีนมผงพร่องไขมัน IPTG และยาแอมพิซิลลิน การศึกษาด้วยวิธีโคโลนีไฮบริไดเซชันกับดีเอ็นเอติดตามของยีนนิวทรัลโปรตีเอสที่ติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสี มีสัญญาณการไฮบริไดซ์ของยีนนิวทรัลโปรตีเอส เมื่อเลี้ยงทรานสฟอร์แมนท์หมายเลข 97 ในอาหารสูตรพื้นฐานที่มีซัคซิเนตเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด 305.08 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ในภาวะ pH 8.5 และการศึกษาผลของสารยับยั้งต่อความสามารถในการทำงานของโปรตีเอสพบว่าเอนไซม์นี้ถูกยับยั้งการทำงานอย่างสมบูรณ์ในภาวะที่มี EDTA เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์แต่ยังคงมีแอคติวิตีอยู่เมื่ออยู่ในภาวะที่มี PMSF เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ เป็นการยืนยันว่าทรานสฟอร์แมนท์ผลิตโปรตีเอสชนิดนิวทรัลโปรตีเอส การทำให้ fusion protein บริสุทธิ์ สามารถทำได้ภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรงภายใน คอลัมน์แอฟฟินิตีโครมาโตกราฟีที่มีเจล glutathione Sepharose 4B แล้วแยก fusion protein ด้วยทรอมบิน ทำให้ได้โปรตีเอสอิสระที่มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงถึง 1,289.18 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ที่ pH 8.5 ซึ่งสูงกว่าก่อนทำให้บริสุทธิ์ถึง 4.23 เท่า และเมื่อทำ SDS-PAGE พบว่าโปรตีเอสอิสระมีน้ำหนักประมาณ 44,000 ดาลตัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ....-........ ลายมือชื่อนิสิต ....
สาขาวิชา ....เทคโนโลยีชีวภาพ.... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ....
ปีการศึกษา ....2540.... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....

C726864 MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD:

CLONING / PROTEASE / *Bacillus subtilis* TISTR25 / GST GENE FUSION SYSTEM

KALYAKORN WONGKALASIN : CLONING OF PROTEASE GENE FROM *Bacillus subtilis* TISTR25 TO *E. coli* BY GST GENE FUSION SYSTEM. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. NAPA SIWARUNGSON. THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. WILAI ANOMASIRI, Ph. D. 114 pp. ISBN 974-637-122-3

Bacillus subtilis TISTR25 was isolated from soil in Thailand and produced both neutral and alkaline proteases. Chromosomal DNA of *B. subtilis* TISTR25 was inserted into expression vector pGEX-2T of GST Gene Fusion system and transformed into *E. coli* HB101 and shown gene expression of the fusion protein. The transformants were screened on skim milk plus IPTG and ampicillin plate. The result of colony hybridization showed signal of neutral protease gene. Succinate containing basal medium was used as a carbon source for the bacterial growth in 24 hours to assay protease activity from transformant No.97. The enzyme showed an optimum activity in buffer pH 8.5 with 305.08 unit/ mg protein. This enzyme was completely inhibited by 5 mM EDTA and remained the activity in 1 mM PMSF. This results confirms that the neutral protease were definitely produced from the transformant No.97. The fusion protein was purified under mild condition by using glutathione Sepharose 4B affinity chromatography column. The specific activity of free neutral protease was 1,289.18 unit/mg protein at pH 8.5 after thrombin cleavage on the fusion protein. The purification fold was 4.23 and the molecular weight of the free neutral protease was approximately 44,000.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา .... -	ลายมือชื่อนิสิต ....
สาขาวิชา .... เทคโนโลยีชีวภาพ	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ....
ปีการศึกษา 2540	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยการดูแลและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผศ.นภา ศิวรังสรรค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการวิจัยมาตลอด ผศ. ดร. วิไล อโนมะศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้ข้อชี้แนะในการทำงานเป็นอย่างดี และเนื่องจากทุนการวิจัยบางส่วนได้มาจากทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยมา ณ ที่นี้ด้วย

กราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. ทิพาพร ลิมปเสนีย์ รศ. ดร. ศิริพร สิทธิประณีต และผศ. ดร.สุเมธ ตันตระเธียร ที่ได้กรุณาเป็นคณะกรรมการในการสอบ และให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้ข้อคิดและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ยิ่ง

กราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีวเคมีทุกท่าน ที่ได้ให้ความกรุณาให้การชี้แนะและคำปรึกษา ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร.สุเมธ ตันตระเธียร เลขานุการหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ ที่กรุณาดูแลนิสิตหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพทุกคนเป็นอย่างดี

ขอบพระคุณหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพและภาควิชาชีวเคมี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี ในการทำวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินการต่าง ๆ ในระหว่างการทำวิจัย

ขอบคุณสมาชิกในห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ได้ให้ความร่วมมือ ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ และให้กำลังใจอันมีค่าแก่ผู้เขียนทั้งในระหว่างทำการวิจัยและการสอบ ขอขอบพระคุณคุณสุรชัย ลีพิทักษ์รัตน์ ที่ช่วยในการเตรียมสไลด์

ขอบคุณครอบครัวของพลตรีธนิต วงศ์กาฬสินธุ์ ครอบครัวไตรวุฒิ และครอบครัวณัฏฐ์เศรษฐ์ ซึ่งได้ให้การดูแล ความอนุเคราะห์อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ ตลอดจนความสะดวกต่าง ๆ แก่ผู้เขียน

ท้ายนี้ผู้เขียนใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ซึ่งสนับสนุนและให้กำลังใจเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณญาติมิตร พี่น้อง และคุณเฉลิมชัย ณัฏฐ์เศรษฐ์ ที่ได้มอบความปรารถนาดี เข้าใจ ช่วยเหลือ ตลอดจนคอยอยู่เป็นกำลังใจให้ผู้เขียนตลอดมา

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..จ

กิตติกรรมประกาศ..ฉ

สารบัญตาราง..ญ

สารบัญรูป...ฐ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..ฌ

บทที่

1. บทนำ..1

2. เครื่องมือ วัสดุภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์

2.1 เครื่องมือ...15

2.2 วัสดุภัณฑ์...18

2.3 เคมีภัณฑ์..19

2.4 ดีเอ็นเอ...20

2.5 แบคทีเรีย..20

3. วิธีการทดลอง..22

3.1 การเตรียมเครื่องแก้วและอุปกรณ์...22

3.2 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์...22

3.3 การโคลนยีนโปรตีเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR25
ด้วยระบบ GST Gene Fusion...23

3.4 ตรวจวัดแอคติวิตีจำเพาะ (specific activity) ของโปรตีเอส
จากทรานสฟอร์แมนท์ ซึ่งอยู่ในรูป fusion protein................................29

3.5 การศึกษาการยับยั้งการทำงานของโปรตีเอสโดย PMSF และ EDTA..................31

3.6 ตรวจสอบชนิดของยีนโปรตีเอสที่ได้ด้วย
เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization)..32

3.7 การทำให้โปรตีเอสบริสุทธิ์ โดยวิธีแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี.........................35

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

3.8 การเปรียบเทียบแอคติวิตีจำเพาะของโปรตีเอสที่อยู่ในรูป fusion protein กับโปรตีเอสอิสระที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี....36
3.9 การตรวจวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE....36
4. ผลการทดลอง....38
4.1 การสกัดดีเอ็นเอของโครโมโซมจาก *Bacillus subtilis* TISTR25....38
4.2 การย่อยดีเอ็นเอแบบไม่สมบูรณ์ (partial digestion)....39
4.3 การแยกดีเอ็นเอออกจากเจล....40
4.4 การสกัดพลาสมิด pGEX-2T เพื่อนำไปใช้โดยวิธี minipreparation....40
4.5 การย่อยพลาสมิด pGEX-2T อย่างสมบูรณ์ (complete digestion)....42
4.6 การเชื่อมดีเอ็นเอ (Ligation)....42
4.7 การเคลื่อนย้ายรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่ได้เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* HB101 ด้วยวิธี *electroporation*....43
4.8 การคัดเลือกทรานสฟอร์แมนท์ที่มียีนโปรตีเอส....45
4.9 การตรวจวัดแอคติวิตีจำเพาะ (specific activity) ของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ซึ่งอยู่ในรูป fusion protein....48
4.10 การศึกษาการยับยั้งการทำงานของโปรตีเอสโดย PMSF และ EDTA....53
4.11 การตรวจสอบชนิดของยีนโปรตีเอสที่ได้ด้วยเทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization)....55
4.12 การทำให้โปรตีเอสบริสุทธิ์ โดยวิธีแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี....57
4.13 การเปรียบเทียบแอคติวิตีจำเพาะของโปรตีเอสที่อยู่ในรูป fusion protein กับโปรตีเอสอิสระที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี....57
4.14 ผลการวิเคราะห์โปรตีเอสด้วยวิธี SDS-PAGE....61
5. สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ....63
รายการอ้างอิง....71

ภาคผนวก.....78
ประวัติผู้เขียน.....114

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงการใช้ประโยชน์ของโปรตีเอส...1
2. แสดงมูลค่าการนำเข้าของเอนไซม์..5
3. แสดงผลของการยับยั้งการทำงานของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ในรูป fusion protein โดย 1 mM PMSF..54
4. แสดงผลของการยับยั้งการทำงานของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ในรูป fusion protein โดย 5 mM EDTA..55
5. ตารางแสดงค่าจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ของโปรตีเอสจาก ทรานสฟอร์แมนท์ก่อนและหลังการทำให้บริสุทธิ์...60

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. แผนที่เรสทริกชันของพาหะดีเอ็นเอ pGEX และอนุพันธ์......9
2. แผนที่เรสทริกชันของพาหะดีเอ็นเอ pGEX-2T และ pGEX-3X......10
3. โครงสร้างของ glutathione ที่ติดอยู่กับ Sepharose ภายในคอลัมน์ของแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี......12
4. กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี......13
5. แสดงผลการสกัดดีเอ็นเอของโครโมโซมจาก *B. subtilis* TISTR25......38
6. แสดงผลการย่อยดีเอ็นเอแบบไม่สมบูรณ์ (partial digestion) ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sau*3AI......39
7. แสดงแถบดีเอ็นเอของโครโมโซมจาก *B. subtilis* TISTR25 ขนาด 1-7 กิโลเบส......40
8. พลาสมิด pGEX-2T ที่ใช้เป็นพาหะดีเอ็นเอในการโคลน......41
9. แสดงการย่อยพลาสมิด pGEX-2T อย่างสมบูรณ์ (complete digestion) ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*HI......42
10. แสดงการเชื่อมกันระหว่าง ดีเอ็นเอของโครโมโซมจาก *B. subtilis* TISTR25 ที่มีขนาด 1-7 กิโลเบส กับพลาสมิด pGEX-2T ที่ถูกย่อยด้วย *Bam*HI......43
11. แสดงการคัดเลือกทรานสฟอร์แมนท์ด้วยการเลี้ยงบนอาหารที่มีนมพร่องมันเนย......44
12. แสดงวงใสรอบ ๆ โคโลนี ของทรานสฟอร์แมนท์ #51, #93, #94, #96 และ #97 บนอาหารที่มีนมพร่องมันเนย......46
13. แสดงการตรวจสอบรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่สกัดได้จากทรานสฟอร์แมนท์ที่โคลนได้......47
14. การตรวจสอบรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่สกัดได้ โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่มีตำแหน่งจดจำ 1 ตำแหน่งบนพลาสมิด pGEX-2T......48
15. กราฟแสดงการเปรียบเทียบการเจริญของ *B. subtilis* TISTR25 ทรานสฟอร์แมนท์ #97 และ เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* HB101......49

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

16. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของโปรตีเอสจาก *B. subtilis* TISTR25 ทรานสฟอร์แมนท์ #97 เซลล์เจ้าบ้านที่มีพลาสมิด pGEX-2T และ เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* HB101 ที่ pH ต่าง ๆ กัน....51
17. กราฟแสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ในรูป fusion protein และ *B. subtilis* TISTR25 ที่ pH ต่าง ๆ กัน....52
18. กราฟแสดงการเปรียบเทียบแอคติวิตีของโปรตีเอสซึ่งอยู่ในรูป fusion protein ของทรานสฟอร์แมนท์ #97 เมื่อถูกยับยั้งโดย 1 mM PMSF....53
19. กราฟแสดงการเปรียบเทียบแอคติวิตีของโปรตีเอสซึ่งอยู่ในรูป fusion protein ของทรานสฟอร์แมนท์ #97 เมื่อถูกยับยั้งโดย 5 mM EDTA....55
20. แสดงผลการทำโคโลนีไฮบริไดเซชัน กับดีเอ็นเอติดตามของยีนนิวทรัลโปรตีเอส....56
21. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ซึ่งอยู่ในรูป fusion protein กับเซลล์เจ้าบ้านที่มีพลาสมิด pGEX-2T และ เซลล์เจ้าบ้าน *E. coli* HB101 ที่ pH ต่าง ๆ กัน....58
22. กราฟแสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 อิสระที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แล้ว ที่ pH ต่าง ๆ กัน....59
23. กราฟแสดงการเปรียบเทียบความบริสุทธิ์ของโปรตีเอสจากทรานสฟอร์แมนท์ #97 ก่อนและหลังการทำให้บริสุทธิ์....60
24. แสดงผลการวิเคราะห์โปรตีเอสด้วยวิธี SDS-PAGE....62

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส (degree Celsius)
มก.	=	มิลลิกรัม (milligram)
มล.	=	มิลลิลิตร (millilitter)
มม.	=	มิลลิเมตร (millimeter)
A	=	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)
aa	=	กรดอะมิโน (amino acid)
α	=	แอลฟา
aprE	=	ยีนใช้ในการสังเคราะห์แอลคาไลน์โปรตีเอส
Ap	=	ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (ampicillin)
APS	=	แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (ammonium persulfate)
ATP	=	เอทีพี (adenosine 5' triphosphate)
BAP	=	บีเอพี (bacterial alkaline phosphatase)
bis,bisacrylamide	=	บิส-อะคริลาไมด์ (*N,N'*-methylene bis acrylamide)
bp	=	คู่เบส (base pair)
BPB	=	บรอมฟีนอลบลู (bromphenol blue)
Bq	=	หน่วยเบคเควเรล (Becquerel)
BSA	=	โบรวายน์ ซีรั่ม อัลบูมิน (bovine serum albumin)
cDNA	=	คอมพลิเมนทารี ดีเอ็นเอ (complementary DNA)
Ci	=	หน่วยคูรี (Curie)
CIP	=	ซีไอพี (calf intestine phosphatase)
Cm	=	คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol)
DNA	=	ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid)
DMF	=	ดีเอ็มเอฟ (dimethyl formamide)

DFP	=	ดีเอฟพี (di-isopropyl fluorophosphate)
dNTP	=	ดีเอ็นทีพี (deoxyribonucleoside triphosphate)
DTT	=	ดีทีที (dithiothreitol)
EDTA	=	อีดีทีเอ (ethylene diamine tetraacetic acid)
factor X	=	แฟคเตอร์ X (blood coagulation factor which is activated to factor X_a by Russell's viper venom)
g	=	กรัม (gram)
γ	=	แกมมา
GST	=	เอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione *S*-transferase)
GST	=	ยีนจีเอสทีใช้ในการสังเคราะห์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส)
hsp	=	heat shock protein
IPTG	=	isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside
kb	=	กิโลเบส kilobase (s) หรือ 1,000 คู่เบส
Km	=	ยาปฏิชีวนะกานามัยซิน (kanamycin)
$lacI^q$	=	ยีนควบคุมการทำงานของ *lac* repressor
LB	=	อาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani
MCS	=	multiple cloning site
min	=	นาที (min)
mg	=	มิลลิกรัม milligram (10^{-3} gram)
μ	=	ไมโคร
ml	=	มิลลิลิตร millilitter (10^{-3} litter)
μl	=	ไมโครลิตร microlitter (10^{-6} litter)
μg	=	ไมโครกรัม microgram (10^{-6} gram)
mm	=	มิลลิเมตร millimeter (10^{-3} meter)

μm	=	**ไมโครเมตร** micrometer (10^{-6} meter)
MW	=	**น้ำหนักโมเลกุล** (molecular weight)
ng	=	**นาโนกรัม** nanogram (10^{-9} gram)
nm	=	**นาโนเมตร** nanometer (10^{-9} meter)
nprE	=	**ยีนใช้ในการสังเคราะห์นิวทรัลโปรตีเอส**
nt	=	**นิวคลิโอไทด์** nucleotide(s)
OD	=	**ค่าความขุ่น** (optical density)
ori	=	**จุดเริ่มต้นของการลอกแบบ** (origin of DNA replication)
PBS	=	**พีบีเอส** (phosphate-buffer saline) (150 mM NaCl, 16 mM Na_2HPO_4, 4 mM NaH_2PO_4, pH 7.3)
PMSF	=	**พีเอ็มเอสเอฟ** (phenyl methanesulfonyl fluoride)
PVP	=	**พีวีพี** (polyvinyl pyrolidone)
^{R}, ^{r}	=	**การต้านยาปฏิชีวนะ** (resistance/resistant)
RNase	=	**เอนไซม์** ribonuclease
rpm	=	**รอบต่อนาที** (round per minute)
SDS	=	**เอสดีเอส** (sodium dodecyl sulfate **หรือ** sodium lauryl sulfate)
SDS-PAGE	=	SDS-polyacrylamide gel electrophoresis
sec	=	**วินาที** (second)
msec	=	millisecond (10^{-3} sec)
ss	=	single stranded
SSC	=	sodium chloride sodium citrate (3 M NaCl, 0.3 M Na-citrate, pH 7.0)
SSPE	=	sodium chloride sodium phosphate EDTA (3 M NaCl, 0.2 M NH_2PO_4, 0.02 M EDTA, pH 7.4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Sj26	=	โปรตีนขนาด 26000 ดาลตันที่ได้จาก หนอนพยาธิ *S. japonicum*
TE	=	Tris EDTA (10 mM Tris-HCl pH 7.4, 1 mM EDTA)
TEMED	=	*N,N,N',N'*-tetramethylene ethylene diamine
V	=	voltage (โวลท์)
WEHI	=	สถาบัน Walte and Eliza Hall Institute
wt	=	wild type
X_a	=	blood coagulation factor X_a

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย