

บทที่ 2

เครื่องมือ เคมีภัณฑ์ เชื้อจุลินทรีย์ และลิกไนท์

1. เครื่องมือ

- 1.1 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Thermal Cycle) รุ่น 2400 ของบริษัท Perkin Elmer, USA.
- 1.2 ชุดเครื่องมือทำอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Agarose gel electrophoresis equipment) ของบริษัท Mupid, Japan.
- 1.3 เครื่องกำเนิดแสงอุลตราไวโอเลต (UV Transilluminator) รุ่น 3-3602 ของบริษัท Fotodyne, USA.
- 1.4 อุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพ
กล้องถ่ายภาพโพลาไรซ์ของบริษัท Polaroid, USA.
แผ่นกรองแสงสีเหลือง
ฟิล์มโพลาไรซ์ ความไวแสง 3000 (ISO 3000)
- 1.5 เครื่องเขย่า (Shaker)
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิเขย่าแบบรีซีโปรคอล
รุ่น Gyromax TM737 ของบริษัท Amerex Instrument, USA.
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิด้วยน้ำ (Water bath shaker) เขย่าแบบรีซีโปรคอล
รุ่น 1086 ของบริษัท Gesellschaft für Labortechnik (GFL), Germany.
รุ่น SS40-D ของบริษัท Grant Instruments (Cambridge) Ltd, England.
- 1.6 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) ของบริษัท Memmert, Germany.
- 1.7 เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SS-325 ของบริษัท Tomy Seiko, Japan.
- 1.8 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot air Oven) ของบริษัท Memmert, Germany.

- 1.9 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ของบริษัท Corning, USA.
- 1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge)
รุ่น 1920 ของบริษัท Kubota., Japan.
- หัวปั่นเหวี่ยง (Rotor) ขนาดเล็ก รุ่น RA 50J
- หัวปั่นเหวี่ยง (Rotor) ขนาดใหญ่ รุ่น RA 228J
เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge)
รุ่น T-42K ของบริษัท Centrikon, Germany.
- หัวปั่นเหวี่ยง (Rotor) รุ่น A-18C
- 1.11 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UVVIS Spectrophotometer) รุ่น UV 160 A ของบริษัท Shimadzu, Japan.
- 1.12 เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ (Gene Pulser Apparatus) ของบริษัท BioRad, USA.
- 1.13 คิวเวท ขนาดช่องระยะห่างระหว่างอิเล็กโทรด 0.2 ซม. สำหรับทำอิเล็กทรอนิกส์ (Gene Pulser cuvette) ของบริษัท BioRad, USA.
- 1.14 เครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic disintegrator) รุ่น Soniprep 150 ของบริษัท Sanyo Gallenkamp Plc, Japan
- 1.15 เครื่องชั่งรุ่น AG204 และ PB3002 ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland.
- 1.16 ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow ของบริษัท Lab Service, Thailand.
- 1.17 ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ของบริษัท Sanyo, Japan.
- 1.18 ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ของบริษัท Forma Scientific, USA.

1.19 แผ่นกรอง (Millipore membrane) ชนิด HA ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอนของบริษัท Millipore Cooperation, USA.

1.20 กระดาษกรอง 3MM ของบริษัท Whatmann, England.

2. สารเคมี

2.1 สารเคมี

สารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในการวิจัยนี้เป็นระดับเพื่อการวิเคราะห์ (Analytical grade)

2.1 เอนไซม์

เอนไซม์เรสทริกชันและเอนไซม์อื่นๆที่ใช้ในขั้นตอนการโคลนยีนของบริษัท

Takara Shuzo, Japan.; New England Biolabs, Inc, USA.

ไลโซไซม์ (Lysozyme) ของบริษัท Sigma, USA.

อาร์เอ็นเอส (RNase) ของบริษัท Sigma, USA.

2.3 ชุดเชื่อมต่อดีเอ็นเอ (Ligation Kit Ver 2) ของบริษัท Takara Shuzo, Japan.

2.4 ชุดแยกแถบดีเอ็นเอ (QIA purification Kit) ของบริษัท QIAGEN, Germany.

2.5 ชุดทำปฏิกิริยา PCR (PCR reagent Kit) ของบริษัท Takara Shuzo, Japan.

3. เชื้อจุลินทรีย์และพลาสมิด

เชื้อจุลินทรีย์และพลาสมิด	พีโนไทป์และจีโนไทป์	แหล่งอ้างอิง
<i>Escherichia coli</i> DH5 α	<i>supE44 ΔlacU169 (ϕ80 lacZΔM15)</i> <i>hsdR17 recA1 endA1 gyrA96 thi-1 relA1</i>	Hanahan 1983
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	- สามารถออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนและ กำมะถันรีดิวส์	
<i>T. ferrooxidans</i> ATCC19859	- สามารถขจัดกำมะถันไพไรต์ออกจาก ถ่านหิน 90-98% ภายในเวลา 8-12 วัน	Hoffmann และคณะ 1981

เชื้อจุลินทรีย์และพลาสมิด	พีนไทป์และจีโนมไทป์	แหล่งอ้างอิง
<i>T. ferrooxidans</i> Y4-3	- ไม่มีพลาสมิด - ไวต่อสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1 ไมโครกรัม/มล. - ประสิทธิภาพการถูกทรานสฟอร์มโดยพลาสมิด pTMZ48 เท่ากับ 168 ± 23 โคโลนี/พลาสมิดดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม	Kusano และคณะ 1992
<i>T. ferrooxidans</i> sat-apr	- <i>T. ferrooxidans</i> Y4-3 ซึ่งมีพลาสมิด pFS24	งานวิจัยนี้
พลาสมิด		
pNTS50 (10.7 กิโลเบส)	- พลาสมิด pUC18 ซึ่งมียีนประมวลรหัสเอทีพีซิลฟูรีเลสและเอพีเอสรีดักเตสของ <i>A. vinosum</i> strain D (DSMZ 180) แทรกอยู่	Dahl (Personal communication)
pTMZ48 (10.7 กิโลเบส)	- พลาสมิด pUC18 ซึ่งมีจุดเริ่มต้นในการจำลองตัวเองของ <i>T. ferrooxidans</i> มีชุดยีนต้านต่อสารปรอทของ <i>T. ferrooxidans</i> E-15 มียีนต้านต่อสารปฏิชีวนะแอมพิซิลิน - สามารถจำลองตัวเองได้ทั้งใน <i>E. coli</i> และ <i>T. ferrooxidans</i>	Kusano และคณะ (1992)
pFS24 (18.7 กิโลเบส)	- พลาสมิด pTMZ48 ซึ่งมียีนประมวลรหัสเอทีพีซิลฟูรีเลสและเอพีเอสรีดักเตสของ <i>A. vinosum</i> strain D (DSMZ 180) จากพลาสมิด pNTS50 สอดแทรกอยู่	งานวิจัยนี้

4. ลิกไนท์

จากเหมืองลิกไนท์ การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย อำเภอแม่เมาะ จังหวัดลำปาง