

บทที่ 2

เครื่องมือ เคมีภัณฑ์ เชื้อจุลินทรีย์ และพืชทดลอง

1. เครื่องมือ

- 1.1 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA thermal Cycler) 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
กล้องถ่ายภาพโพลารอยด์ของบริษัท Polaroid, USA.
แผ่นกรองแสงสีเหลือง
ฟิล์มโพลารอยด์ ความไวแสง 3000 (ISO 3000)
กล้องถ่ายภาพ รุ่น N8550991 ของบริษัท Nikon, Japan
- 1.5 เครื่องเขย่า (Shaker)
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิแบบรีซีโพรคอคอล รุ่น Gyromax TM737 ของบริษัท Amerex Instrument, USA., เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิด้วยน้ำ (Waterbath Shaker) เขย่าแบบรีซีโพรคอคอล รุ่น 1086 ของบริษัท Gesellschaft für laborotechnik (GFL), Germany;
รุ่น SS40-D ของบริษัท Grant Instruments (Cambridge) Ltd., England.
- 1.6 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) รุ่น BE600 ของบริษัท Memmert, Germany.
- 1.7 เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SS325 ของบริษัท Tomy Seiko, Japan.

- 1.8 เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter) ของบริษัท Corning, USA.
- 1.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิได้ (Refrigerated centrifuge) รุ่น 1920 ของบริษัท Kubota, Japan.
- หัวปั่นเหวี่ยง (Rotor) ขนาดเล็ก รุ่น RA 50 J
 - หัวปั่นเหวี่ยง (Rotor) ขนาดใหญ่ รุ่น RA 228 J
- 1.10 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrophotometer) รุ่น UV 160 A ของบริษัท Shimadzu, Japan.
- 1.11 เครื่องชั่งรุ่น PB3002 และ AG204 ของบริษัท Mettler toledo, Switzerland
- 1.12 ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow รุ่น H2 ของบริษัท Lab Service, Thailand.
- 1.13 ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ของบริษัท Sanyo, Japan.
- 1.14 ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส รุ่น ULT1786 ของบริษัท Forma Scientific, USA.
- 1.15 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot Air Oven) รุ่น D06063 ของบริษัท Memmert , Germany.
- 1.16 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสีขาวความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

2. สารเคมี

2.1 สารเคมี

สารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในการวิจัยนี้เป็นระดับเพื่อการวิเคราะห์ (Analytical grade)

2.2 เอนไซม์

เอนไซม์เรสทริกชันและเอนไซม์อื่นๆ ที่ใช้ในขั้นตอนการโคลนยีนของบริษัท Takara Shuzu, Japan; New England Biolabs, Inc, USA.

เอนไซม์ไลโซไซม์ (Lysozyme) ของบริษัท Sigma, USA.

เอนไซม์อาร์เอ็นเอเอส (RNase) ของบริษัท Sigma, USA.

2.3 ชุดทำปฏิกิริยา PCR ของบริษัท Takara Shuzo, Japan.

3. เชื้อจุลินทรีย์และพลาสมิด

3.1 *Agrobacterium tumefaciens* EHA 101 (Hood และคณะ, 1986)

จาก Nara Institute of Science and Technology, Japan.

3.2 พลาสมิด

พลาสมิด pBIH1-IG(SX) ซึ่งดัดแปลงจากพลาสมิด pBIH1-IG (Kimura และคณะ, 1993)

จาก Nara Institute of Science and Technology, Japan.

3.3 โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์เพื่อเพิ่มปริมาณยีนประมวลรหัสบีตา-กลูคูโรนิเดส

โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ทิศทางไป (forward primer) ขนาด 20 เบส ออกแบบและ

สังเคราะห์โดยใช้ข้อมูลลำดับเบสของโปรโมเตอร์ชนิด califlower mosaic virus 35s

ตำแหน่งที่ 699-719 เบส คือ 5' GACGTTCCAACCACGTCTTC 3' และ โอลิโกนิวคลีโอ

ไทด์ไพรเมอร์ทิศทางกลับ (reverse primer) ขนาด 20 เบส ออกแบบและสังเคราะห์

โดยใช้ข้อมูลลำดับเบสของยีนประมวลรหัสบีตา-กลูคูโรนิเดส ตำแหน่งที่ 13-32 เบส คือ

5' TCACGGGTTGGGGTTTCTAC 3'

3.4 โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์เพื่อเพิ่มปริมาณยีนไฮโกรมายซินฟอสโฟทรานสเฟอเรส

(Hatanaka และคณะ, 1999)

โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ทิศทางไป (forward primer) ขนาด 20 เบส คือ

5' TTCTACACAGCCATCGGTCC 3' และ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ทิศทางกลับ

(reverse primer) ขนาด 20 เบส คือ 5' GCGTGACCTATTGCATCTCC 3' ออกแบบ

และสังเคราะห์โดยใช้ข้อมูลลำดับเบสของยีนไฮโกรมัยซินฟอสโฟทรานสเฟอเรส
ตำแหน่งที่ 58-77 เบส และ 751-770 เบส ตามลำดับ สังเคราะห์โดยวิธี Solid Support-
CPG(controlled-pore-glass) ที่หน่วยบริการชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยี
แห่งชาติ

4. พืชทดลอง

4.1 เมล็ดพันธุ์ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*)

จากบริษัทเจียไต๋ จำกัด, ประเทศไทย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย