รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ และ เจมส์ เอฟ แมกซ์เวลล์. 2535. รายชื่อวัชพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย. เชียงใหม่: ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บุศบรรณ ณ สงขลา. 2538. อนุกรมวิธานพืช. ราชบัณฑิตสถาน, กรุงเทพฯ.

ลานข่าวสุขภาพ. 2549. ผักกระสัง ดูดน้ำ ดูดฝี ยาแก้ปวด[online]. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศเพื่อการศึกษา มูลนิธิเด็ก. แหล่งที่มา: http://www.healthsquare.org[8 ม.ค. 2550]

วัชรี ลิมปนสิทธิกุล . 2541.อณูชีววิทยาทางการแพทย์. รศ.นพ.นเรศ สุขเจริญ., ผศ.ดร.นพ. อภิวัฒน์ มุทิรางกูร, ศ.นพ. ยง ภู่วรวรรณ, Recombinant therapeutic product. 587-596 : กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนเจอร์นัล พับลิเคชั่น.

วัชรีวรรณ แจ่มบุญศรี, ราตรี รอดอารีย์ และสุพัฒน์ อรรถธรรม. 2543. กระสังมิติใหม่แห่งพืชตัวอย่าง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (38) : 348-355.

วิวัฒน์ อิงคะประดิษฐ์. 2542. กระสังผักพื้นบ้านที่น่ารับประทาน. กสิกร. 72 (1) : 61-62.

สมพร ภูติยานันท์. 2542. การตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพรภาคพิเศษ. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. 2542. สมุนไพรพื้นบ้าน. กรุงเทพฯ: ประชาชน.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: แพร่พิทยา.

ภาษาอังกฤษ

Agrawal, S., Chandra, N., and Kothari, S. L. 1989. Plant regeneration in tissue cultures of pepper (*Capsicum annuum L. cv. mathania*). Plant cell, Tissue and Organ Culture. 16: 47-55.

Aziba, I. P., Adedeji, A., Ekor, M., and Adeyemi, O. 2001. Analgesic activity of Peperomia pellucida aerial parts in mice. Fitoterapia 72: 57-58.

Bayma, C. J., *et al.* 2000. A dimeric ArC_2 compound from *Peperomia pellucida*. Phytochemistry. 55: 779-782.

Bhopale, H.M., and Nanda. 2005. Recombinant DNA expression products for human therapeutic use. Current Science. 89: 614-621.

Daniell, H., Stephen, J., and Keith, W. 2001. Medical molecular farming:production of antibodies,biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. Trends in Plant Science. May : 219-226.

Das, R.C. 2000. Proteins and antibodies make advances as therapeutic products. American Biotechnology Laboratory. February : 38-40.

Davies, J.P. 1998. Plant Hormone Physiology ,Biochemistry and Molecular Biology. Netherlands : Kluwer Academic Plublisher.

Desnick, J. R. 2004. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases. Journal of Inherited Metabolic dise 27(3): 385-410.

Ernest Beutler. 1981. Enzyme replacement therapy. Trends in Biochemical Sciences. 6: 95-7.

Freifelder, D. 1983. Moleccular Biology. 2nd ed. Boston: Jone and Bartlett Publishers,

Garvey,P. B., *et al.* 1995. Expression of the rabies virus glycoprotein in transgenic tomatoes. Biotechnology. 13(13): 1484-1487.

Giddings, G., Allison, G., Brooks, D., and Carter, A. 2000. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. Nature Biotechnology 18: 1151-1155.

Goldstein D.A., and Thomas, J.A. 2004. Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. An International Journal of Medicine. 97: 705-716.

Gomord, V., and Faye, L. 2004. Posttranslational modification of therapeutic proteins in plants. Current Opinion in Plant Biology. 7: 171-181.

Grabowski, G.A., *et al.* 1995. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease :comparative efficacy of mannose-terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. Annals of Internal medicine. 122 : 33-39.

Grabowski, G.A., Saal, H M., Wenstrup, R. J., and Barton, N. W. 1996. Gaucher disease: a prototype for molecular medicine. Critical Reviews in Oncology/Hematology 23: 25-55.

Henry, H. 2000. Recombinant glucocerebrosidase and lyme disease vaccine made by genetic engineering (No. 11 in a series of articles to promote a better understanding of the use of genetic engineering). Journal of Biotechnology. 76 : 259-263.

Daniell, H., Stephen, J., and Keith, W. 2001. Medical molecular farming:production of antibodies,biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. Trends in Plant Science. May : 219-226.

Das, R.C. 2000. Proteins and antibodies make advances as therapeutic products. American Biotechnology Laboratory. February : 38-40.

Davies, J.P. 1998. Plant Hormone Physiology ,Biochemistry and Molecular Biology. Netherlands : Kluwer Academic Plublisher.

Desnick, J. R. 2004. Enzyme replacement and enhancement therapies for lysosomal diseases. Journal of Inherited Metabolic dise 27(3): 385-410.

Ernest Beutler. 1981. Enzyme replacement therapy. Trends in Biochemical Sciences. 6: 95-7.

Freifelder, D. 1983. Moleccular Biology. 2nd ed. Boston: Jone and Bartlett Publishers, Inc.

Garvey,P. B., *et al.* 1995. Expression of the rabies virus glycoprotein in transgenic tomatoes. Biotechnology. 13(13): 1484-1487.

Giddings, G., Allison, G., Brooks, D., and Carter, A. 2000. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. Nature Biotechnology 18: 1151-1155.

Goldstein D.A., and Thomas, J.A. 2004. Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. An International Journal of Medicine. 97: 705-716.

Gomord, V., and Faye, L. 2004. Posttranslational modification of therapeutic proteins in plants. Current Opinion in Plant Biology. 7: 171-181.

Grabowski, G.A., *et al.* 1995. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease :comparative efficacy of mannose-terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. Annals of Internal medicine. 122 : 33-39.

Grabowski, G.A., Saal, H M., Wenstrup, R. J., and Barton, N. W. 1996. Gaucher disease: a prototype for molecular medicine. Critical Reviews in Oncology/Hematology 23: 25-55.

Henry, H. 2000. Recombinant glucocerebrosidase and lyme disease vaccine made by genetic engineering (No. 11 in a series of articles to promote a better understanding of the use of genetic engineering). Journal of Biotechnology. 76 : 259-263.

Henry, D., Stephen, J. S., and Keith W. 2001. Medical molecular farming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plant. TRENDS in Plant Science. 5: 219-220.

Johnson, I.S. 1983. Human Insulin from recombinant DNA technology. Science. 219: 632-637.

Kang, J. T., Seo, E. J., Loc, H. N., and Yang, S. M. 2003. Herbicide Resistance of Tobacco Chloroplasts Expressing the *bar* gene. Molecules and Cells. 16: 60-66.

Khan, R. M., and Omoloso, D. A. 2002. Antibacteral activity of Hygrophila stricta and *Peperomia pellucida*. Fitoterapia. 73: 251-254.

Kintzios, S. E., Tryantafyllou, M., Drossopoulos, A. J. and Holevas, C. D. 1996. Effect of genotype and different growth regulator treatments on callus induction, proliferation and plant regenration from mature wheat embryos. Cereal Research Communications. 24:147–153.

Koprowski, H. 2004. Vaccines and sera through plant biotechnology. Journal vaccine (Accepted) Maki, H. 1999. PCR Tips. Tokyo: Shujunsha.

Kuribara, H. 2002. Novel reference molecules for quantification of genetically modified Maize and soybean. Journal of AOAC International. 85: 1077-1089.

Larrick, W. J., and Thomas W. D. 2001. Producing proteins in transgenic plants and animals. Current Opinion in Biotechnology. 12: 411-418.

Leonard, J. S. 2004. Biotechnology Products Derived From Mammalian Cell Lines: Impact of Manufacturing Changes. Regulatory Affairs Focus. 29-31.

Liu, Y. L., Wang, J. F., Qiu, B. S., Zhao, S. Z., and Tian, B. 1994. Expression of human hepatitis B virus surface antigen gene in transgenic tobacco. Science China Biotechnology. 37(1): 37-41.

Loumaye, E. *et al.* 1998. Recombinant follicle stimulating hormone: development of the first biotechnology product for the treatment of infertility. Recombinant Human FSH Product Development Group. Human Reproduction Update. 4: 862–881.

Mankin, HJ. 1993. Gaucher's disease: a novel treatment and an important breakthrough . Journal of Bone & Joint Surgery (Br). 75 : 2-3.

Maria, F. A. E., *et al.* 2004. Anti-inflammatory and analgesic activity of Peperomia pellucida (L.) HBK (Piperaceae). Journal of Ethnopharmacology. 91: 215-218.

Mason, H.S. *et al.* 1992. Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 89 : 11745-11749.

Mor, T. S., Gómez-Lim, M.A., and Palmer, K.E. 1998. Perspective: edible vaccines-a concept coming of age. Trends in Microbiology. 6: 449-453.

Murashike, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.

Murray, C., *et al.* 2002. Expression of biotin-binding protein, avidin and streptavidin, in plant tissues using plant vacuolar targeting sequences. Transgenic Research 11: 199-214.

Murray, M.G. and Thompson, W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Neucleic Acids Research. 8(19):4321-4326.

Neutzling O. 1993. Production of factor VIII by genetic techniques. Beitr Infusionsther. 31: 38-43.

Orvisky, E., *et al.* 2002. The identification of eight novel glucocerebrosidase (GBA) mutations in patients with Gaucher disease. Human Mutation. 19 : 458-462.

Ponce, E., Moskovitz, J., and Grabowski, G. 1997. Enzyme Therapy in Gaucher Disease Type 1: Effect of Neutralizing Antibodies to Acid β-Glucosidase. Blood 90(1): 43-48.

Rainer, F., Eva, S., Stefan, S., Paul, C., and Richard, M. T. 2004. Plant-based production of viopharmaceuticals. Current Opinion in Plant Biology 7: 152-158.

Reggi, S. *et al.* 2005. Recombinant human acid β-glucosidase stored in tobacco seed is stable, active and taken up by human fibroblasts. Plant Molecular Biology. 57(1): 101-113.

Richter R. Tobacco plant vaccine shows promise against non-Hodgkin's lymphoma. Standford report [online]. Available from [http://newsservice.stanford.edu/news/1999/january27/tobaccovac127.html [1999, Jan 27]

Roscoe, O. B., and Norman, W. B. 1994. Enzyme Replacement Therapy for Gaucher Disease: Critical Investigations beyond Demonstration of Clinical Efficacy. Biochemical Medicine and Metabolic Biology. 52: 1-9.

Roscoe, O. B., and Raphael, S. 2004. Enzyme-replacement therapy for metabolic storage disorders. Lancet Neurol. 3: 752-56.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning : A Laboratory Manual. 2 nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory.

Schiff, L.J. 2004. Biotechnology Products Derived From Mammalian Cell Lines:Impact of Manufacturing Changes. Regulatory Affairs Focus October : 29-31.

Sexton, A., *et al.* 2005. Transgenic plant production of Cyanovirin-N, an HIV microbicide. The FASEB Journal. 10: 1096-2008.

Slater, A., Scott, N. W. and Fowler, M. R. 2004. Plant Biotechnology: The Genetic Manipulation of Plants. First published. Oxford: Oxford University Press.

Sly, WS. 2002. Enzyme replacement therapy:from concept to clinical practice. Actar Paediatric Supply. 91: 1-8.

Twyman, R. M., Christou, P., and Stoger, E. 2002. Genetic transfromation of plants and their cells. In K. Marja; O. Caldentey; and W. H. Barz (eds.), Plant Biotechnology and Transgenic Plants,pp. 111-142. United States: Marcel Dekker.

Warzecha, H., and Mason, S. H. 2003. Benefits and risks of antibody and vaccine producton in transgenic plant. Plant Physiology. 160: 755-764.

Weinreb, N.J., *et al.* 2002. Effectiveness of enzyme replacement therapy in 1028 patients with type 1 Gaucher disease after 2 to 5 years of treatment: a report from the Gaucher registry. The American Journal of Medicine. 113: 112-119.

Winfield, S.L., Tayebi, N., Martin, B.M., Ginns, E.I., and Sidransky, E. 1997. Identification of three additional genes continuous to the glucocerebrosidase locus on chromosome1q21: implications for Gaucher disease. Genome Research. 7 : 1020-1026.

Xu, s., *et al.* 2006. Bioactive Compounds from *Peperomia pellucida*. The Journal of Natural Products. 69: 247-250.

Yi, G., Shin, M., Choe, G., Shin, B., Kim, Y. S., and Kim K. M. 2007. Production of herbicide resistant sweet potato plants transformed with the bar gene. Biotechnology Letters. 29: 669-675.

Zimran *et al.* 1993. Home Treatment With Intravenous Enayme Replacement for Gaucher Disease: An International Collaborative Study of 33 Patients. Blood 82(4): 1107-1109.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเตรียม stock อาหารสูตรพื้นฐาน MS (Murashige and Skoog., 1962) ต่อปริมาตร 1 ลิตร (1,000 cc.)

Stock 1	KNO_3	เตรียมปริมาตร 200 ml
(100x)	NH_4NO_3	
	$MgSO_4.7H_2O$	
	KH_2PO_4	
Stock 2	$CaCl_2.2H_2O$	เตรียมปริมาตร 200 ml
(200x)		
Stock 3	$MnSO_4.4H_2O$	เตรียมปริมาตร 200 ml
(200x)	KI	
	H_3BO_3	
	$ZnSO_4.7H_2O$	
	$CuSO_4.5H_2O$	
	$NaMoO_4.2H_2O$	
	$CoCl_2.6H_2O$	
Stock 4	$FeSO_4.7HO_2$	เตรียมปริมาตร 200 ml
(100x)	Na_2EDTA	
Stock 5	Nicotinic acid	เตรียมปริมาตร 200 ml
(100x)	Pyridoxine-HCl	
	Thiamine-HCl	
	Myo-Inositol	
	Glycine	
	Glutamine	

สารเคมีที่ใช้ในงานชีวโมเลกุล

Phenol (water Sat) (TE Sat) (Tris pH)

Distil Phenol	500 ml
8-Hydroxyquinolinol	0.6 g
DW	300 ml

Use Tris. HCl non adj. For Tris non adjust

TE

Tris.HCl pH adjusted

In equal volume

Phenol: Chloroform (Phenochor)

Phenol	1000 ml
Chloroform	960 ml
Isomyl alcohol	40 ml
8-Hydroxyquinoline	2 g
β-(or 2) Mercaptoethanal	4 ml
1 M Tris.HCl non adj pH	600 ml

0.5 M EDTA Stock

EDTA	186.1 g
DW up to	800 ml

Adj pH to 8.0 (by NaOH~ 20 g)

Autoclave

TE Stock (10x TE Stock)

1 M Tris. HCl pH 8.0 (100x)	5 ml
0.5 M EDTA Stock (500x)	1 ml
DW up to	500 ml

Autoclave

10x TE Stock

1 M Tris. HCl pH 8.0 (100x)	5	ml
0.5 M EDTA Stock (500x)	1	ml
DW up to	50	ml

Autoclave

Rnase TE

10x TE Stock	1	ml
1000x Rnase Stock	10	ul

Lysozyme buffer

50 mM Tris. HCl pH 8.0

50 mM Sucrose (342.342. MW)

10 mM EDTA

1 M Tris.HCl pH 8.0 50 ml

Sucros 17.1 g

0.5 M EDTA Stack 20 ml

without autoclave

3 M CH_3 COOK pH 4.8 (for ALK neutralize)

CH_3 COOK (5 Mj stock)	254.4 g in	600	ml
CH_3 COOK (cd. 002-12)	115	ml	
H_2O	285	ml	

3 M CH_3 COONa pH 5.2

Sodium acetate. 3 H_2O	408.2 g/800	ml

And Adj pH to 5.2 by Acetic acid

Adj volume to 1 lite with DW

Autoclave

10 M. Ammonium Acetate for precipitation of DNA

Ammonium Acetate	770	g
DW	800	ml
Adj volume to 1 lite with H_2O		

autoclave

Isoprop-SAT NaCl TE

Isoprop	200-300	Aprx
NaCl	40	g
TE	100	ml

EtBr Stock (20 mg/ml)

EtBr 1 g stock use at :

Add DW up to 100 ml

Store in dark bottle; RTM

KOAc

Acetic acid	11.5	ml
5 M acetate	60	ml
DW	28.5	ml
Total	100	ml

70% Ethanol

absolute ethanol	70	ml
DW up to	100	ml

10% SDS Stock (DNA)

SDS	10	g
DW up to	100	ml

Tris-buffer (1.0 M Tris. HCl, pH 7.5)

Tris	60.7 g
H_2O to	500 ml
Adjust pH 7.5	

5 M Potassium acetate (100 ml)

Potassium acetate	49.07	g
Add H_2O up to	100	ml
Autoclave		

3 M NaAOc for RNA (200 ml)

Sodium acete .3 H_2O	102.025	g
Adjust pH to 5.2 by Acetic acid		
Add DEPC water to 200 ml		

8 M Licl (500 ml)

Licl	118.36	g
Add H_2O to	500	ml

RNA extraction buffer (TE)

Final conc		
50 mM Tris. HCl (pH 7.6)	stock 1 M	5 ml
50 mM NaCl	5 M	1 ml
5 mM EDTA	0.5 M	1 ml
DW up to	95.7 ml	
Autoclave		
Add 1% SDS	1 ml	
Add 3 %Bentonite	3.3 ml	

Chloroform:Isoamylalcoho (24:1,v/v)

Chloroform	24 ml
Isoamylalcohol	1 ml

CTAB extraction buffer

CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide)	4	g
1 M Tris-HCl,PH 8.0	20	ml
0.5 M EDTA	8	ml
5 M NaCl	56	ml

ปรับปริมาตรโดยการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ครบ 200 ml

*** CTAB ไม่สามารถ autoclave ได้

Alkaline solution (10 ml)

2 N NaOH	1	ml
10% SDS	1	ml
DW	8	ml

DEPC water (0.01% v/v)

H_2O	1000	ml
DEPC	100	ml

2N NaOH

NaOH	8	g
Add DW	100	ml

SOB medium

Bacto trypton	2.0	g
Bacto yeast extract	0.5	g
5 M NaCl Solution	200	ul
2 M KCl	125	ul
add DW	99	ml

autoclave

add 2M $MgCl_2$ solution 0.5 ml

SOC medium (100 ml)

SOB medium	100 ml
1 M glucose	20 ml

LB broth (1000 ml)

Bacto-tryptone	10 g
Bacto-yeast extract	5 g
NaCl	10 g
Add H_2O to	1000 ml
Adjust pH 7.5	

ภาคผนวก ข

วิธีการสกัดอาร์เอ็นเอด้วยฟีนอล

1. นำตัวอย่างกระสัง 100 มิลลิกรัม ใส่ลงในโกร่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เติม extraction buffer และ phenol ในอัตราส่วน 1:1 บดให้ละเอียดแล้วถ่ายลงในหลอดเซ็นตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 นาที
2. ดูดสารละลายส่วนใสชั้นบน(supernatant)ใส่ในหลอดใหม่เติม phenol : chloroform ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลานาน 5 นาที
3. ดูดส่วนใสชั้นบนใส่ในหลอดใหม่ สกัดซ้ำด้วยการเติม chloroform : isoamyl (24:1) ในอัตราส่วนเท่ากับปริมาตรของสารละลาย ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที
4. ดูดสารละลายส่วนใสชั้นบนใส่หลอดใหม่ เติมสารละลายโซเดียมอะซิเตด เข้มข้น 3 โมลต่อลิตร pH 5.2 ปริมาตร 1/10+1 ไมโครลิตรของปริมาตรสารละลาย และ absolute ethanol 2.5 เท่าของปริมาตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียสเซลเซียส เป็นเวลา 15-30 นาที
5. ตกตะกอนอาร์เอ็นเอโดยการนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนอาร์เอ็นเอที่ได้ด้วยด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
6. เทส่วนใสทิ้ง นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer จากนั้นละลายตะกอนด้วย น้ำ DEPC ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เก็บอาร์เอ็นเอที่ละลายแล้วที่อุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียสเซลเซียส

การสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย

1. เลี้ยงแบคทีเรียในขวดเลี้ยงเชื้อ ซึ่งบรรจุอาหาร LB broth 3 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่มีเครื่องเขย่า อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเซลเซียส เป็นเวลานาน 12-24 ชั่วโมง
2. นำแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ แบ่งใส่หลอดเซ็นตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมสารละลาย Lysosyme buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำให้เซลล์กระจายโดยใช้เครื่องผสมสาร (vortex) เติมสารละลาย alkaline buffer 200 ไมโครลิตร นำไป vortex จากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายโปแตสเซียมอะซีเตต ปริมาตร 150 ไมโครลิตร นำไป vortex ซ้ำอีกครั้งแล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 15 นาที
3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ที่ความเร็วรอบ 12000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดเซ็นตริฟิวจ์ใหม่ เติม phenal - chlorofrom (1:1) 500 ไมโครลิตร นำไป vortex จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
4. เก็บสารละลายส่วนใสใส่หลอดเซ็นตริฟิวจ์ใหม่เติม propanol ลงไป 2.5 เท่าของปริมาตรของสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 rpm 15 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ
5. นำตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70เปอร์เซ็นต์ 500 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เก็บส่วนที่ตกตะกอนไว้
6. นำตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ไปทำให้แห้งโดยเครื่อง Lyophilizer เป็นเวลา10-15 นาที
7. ละลายตะกอนใน TE-Rnase buffer 30 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ตู้ incubate 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำพลาสมิดที่ได้ไปตรวจสอบผลด้วยวิธี gel electropheresis

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปาลิตา แปวไธสง เกิดวันที่ 8 พฤศจิกายน พ.ศ. 2523 ที่โรงพยาบาลประทาย อำเภอประทาย จังหวัดนครราชสีมา เป็นบุตรของ นายบุญจันทร์ - นางนงคราญ แปวไธสง สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2545 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต หลักสูตรพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2546