บทคัดย่อ

เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่ของเอนไซม์โพลิเมอเรสประกอบกับข้อมูลลำดับเบสที่พบซ้ำๆ ในแบคทีเรียสามารถใช้แยกแยะสายพันธุ์ *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli* ERIC-PCR สามารถใช้หาเอกลักษณ์ของสายพันธุ์ไรโซเบียมได้พอสมควร ในการทดลองนี้จึงได้ปรับปรุงเทคนิคนี้โดยได้ศึกษาผลของวิธีเตรียมดีเอ็นเอและปริมาณดีเอ็นเอ ผลการทดลองแสดงว่าจำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์เพื่อที่จะได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สมบูรณ์ วิธีที่ดีที่สุดคือวิธี CTAB และ guanidine isothiocyanate ส่วนดีเอ็นเอที่เตรียมโดยวิธี SDS-boiling ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ไม่สมบูรณ์ ในขณะที่วิธีง่ายๆอย่างวิธี freeze-thaw และ modified freeze-thaw ไม่ได้ผล ปริมาณดีเอ็นเอช่วงกว้าง คือ 5-200 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา PCR 25 ไมโครลิตรให้ผลผลิต ERIC-PCR เหมือนกัน สำหรับ REP-PCR ไม่สามารถใช้หาลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่น่าเชื่อถือได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ABSTRACT

PCR technique based on bacterial repetitive sequences was used to differentiate *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli* strains. In previous study, ERIC-PCR was successful in identifying rhizobium strains to some extent. In this study, we tried to improve the technique by studying the effects of DNA preparation methods and DNA amount on ERIC-PCR. In order to obtain complete ERIC-PCR fingerprints, purified genomic DNA was needed. CTAB method and guanidine isothiocyanate method worked equally well, while DNA from SDS-boiling method resulted in incomplete fingerprints. But cell lysate from freeze-thaw and modified freeze-thaw methods could not be sources of amplifiable genomic DNA. Quite a wide range of DNA amounts, 5-200 ng added to 25-µl PCR reaction, yielded relatively the same ERIC-PCR fingerprints. In contrast to ERIC-PCR, REP-PCR did not work in our hands.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved