

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
สารบัญรูป	iii
สารบัญตาราง	v
บทคัดย่อ	vi
Executive Summary	
1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์	5
3. ระเบียบวิธีการวิจัย	6
4. แผนการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ	9
5. งบประมาณโครงการ	11
บทนำ	12
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	
1. การศึกษาระยะของวงจรการลอกคราบ และการคัดเลือกระยะเวลาการลอกคราบของกิ้งกูดาคำ	15
2. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของเซลล์ (cell morphology) ของเนื้อเยื่อผิวหนัง (epidermis) ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) หลังการลอกคราบ (postmolt) และระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ (intermolt) ของกิ้งกูดาคำ	24
2.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนัง (Epidermal cell morphology) ในแต่ละระยะของวงจรการลอกคราบ	24
2.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง (sub-epidermis) ในแต่ละระยะของวงจรการลอกคราบ	25
3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างภายในเซลล์ (ultra-structures) ของเนื้อเยื่อผิวหนัง (epidermis) ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) หลังการลอกคราบ (postmolt) และระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ (intermolt) ของกิ้งกูดาคำ	29

4. การศึกษาการแสดงออกของโปรตีนในภาพรวม (overview of protein expression) ของเนื้อเยื่อผิวหนัง (epidermis) ในระยะก่อนการลอกคราบ (pre molt) หลังการลอกคราบ (post molt) และระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ (inter molt) ของกิ้งกูดาคำ	43
4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกโปรตีนด้วยแผ่นวันสองมิติ	43
4.2 การเปรียบเทียบภาพรวมของโปรตีนในเนื้อเยื่อผิวหนังของกิ้งกูดาคำในระยะก่อนการลอกคราบ (pre molt) หลังการลอกคราบ (post molt) และระยะระหว่างวงจรการลอกคราบ (inter molt) ของกิ้งกูดาคำ	44
5. การศึกษาคุณสมบัติของโปรตีน (identification of the proteins) ในเนื้อเยื่อผิวหนัง (epidermis) ที่มีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกตลอดการลอกคราบของกิ้งกูดาคำ	44
5.1 การหา peptide mass fingerprints ของโปรตีน	44
5.2 การหา protein identification	47
6. การศึกษาที่ต้องทำต่อ	59
6.1 ศึกษา protein identification ของ เม็ดโปรตีนที่ 2 และ 3 เพิ่มเติม	59
6.2 ศึกษาโปรตีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบเพิ่มเติม	59
เอกสารอ้างอิง	63
Output ที่ได้จากโครงการ	67
Appendix I Mascot search results ของเม็ดโปรตีนที่ 1	
Appendix II Mascot search results ของเม็ดโปรตีนที่ 2	
Appendix III Mascot search results ของเม็ดโปรตีนที่ 3	
Appendix IV Swissprot search result ของโปรตีน Allergen Pen m 2	
Appendix V บทคัดย่อที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ	
Appendix VI Reprints	
Appendix VII Manuscript	

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 การคัดเลือกกระบวนการลอกคราบของกิ้งกูดำโดยอาศัยลักษณะทางกายภาพ	16
รูปที่ 2 คราบกิ้งกูดำ	18
รูปที่ 3 ระยะเวลาของวงจรการลอกคราบของกิ้งกูดำ	19
รูปที่ 4 การคัดเลือกกระบวนการลอกคราบของกิ้งกูดำตามลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเปลือก	21
รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังตลอดวงจรการลอกคราบของกิ้งกูดำ	22
รูปที่ 6 Epidermal cells	26
รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังตลอดวงจรการลอกคราบของกิ้งกูดำ	28
รูปที่ 8 โครงสร้างอย่างละเอียดของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของกิ้งกูดำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	32
รูปที่ 9 โครงสร้างอย่างละเอียดของ epidermal cell type I ในระยะ D2-D3	33
รูปที่ 10 โครงสร้างอย่างละเอียดของ epidermal cell type I ในระยะ D4	34
รูปที่ 11 โครงสร้างอย่างละเอียดของ epidermal cell type I ในระยะ A	35
รูปที่ 12 โครงสร้างอย่างละเอียดของ epidermal cell type I ในระยะ B	38
รูปที่ 13 โครงสร้างอย่างละเอียดของช่องว่างระหว่างเซลล์ผิวหนังในระยะต่าง ๆ ของการลอกคราบ	39
รูปที่ 14 โครงสร้างอย่างละเอียดของ epidermal cell type II	42
รูปที่ 15 ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในปริมาณต่าง ๆ บนแผ่นวุ้นขนาด 9 x 10 เซ็นติเมตร	45
รูปที่ 16 ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในระยะต่าง ๆ ของวงจรการลอกคราบบนแผ่นวุ้นขนาด 9 x 10 เซ็นติเมตร	46
รูปที่ 17 ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในระยะต่าง ๆ ของวงจรการลอกคราบบนแผ่นวุ้นขนาด 9 x 10 เซ็นติเมตร	48
รูปที่ 18 Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 1 โดยใช้ MALDI - TOF Mass Spectrometer	49

รูปที่ 19	Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 2 โดยใช้ MALDI - TOF Mass Spectrometer	50
รูปที่ 20	Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 3 โดยใช้ MALDI - TOF Mass Spectrometer	51
รูปที่ 21	Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 1 โดยใช้ LC - Mass Spectrometer	54
รูปที่ 22	ลำดับของกรดอะมิโนจากเม็ดโปรตีนที่ 1 ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย LC - Mass Spectrometer	55
รูปที่ 23	Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 2 โดยใช้ LC - Mass Spectrometer	56
รูปที่ 24	ลำดับของกรดอะมิโนจากเม็ดโปรตีนที่ 2 ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย LC - Mass Spectrometer	57
รูปที่ 25	Mass spectrometry ของ peptides จากเม็ดโปรตีนที่ 3 โดยใช้ LC - Mass Spectrometer	58
รูปที่ 26	ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในระยะก่อนการลอกคราบบนแผ่นวัน ขนาด 15 x 17 เซ็นติเมตร	60
รูปที่ 27	ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในระยะหลังการลอกคราบบนแผ่นวัน ขนาด 15 x 17 เซ็นติเมตร	61
รูปที่ 28	ภาพเม็ดโปรตีนของเนื้อเยื่อผิวหนังในระยะระหว่างวงจรการลอกคราบบนแผ่นวัน ขนาด 15 x 17 เซ็นติเมตร	62

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 หน้าหนักของท่อนเปปไทด์ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซินโดยใช้โปรตีนที่แยกได้

จาก 2D SDS — PAGE

52