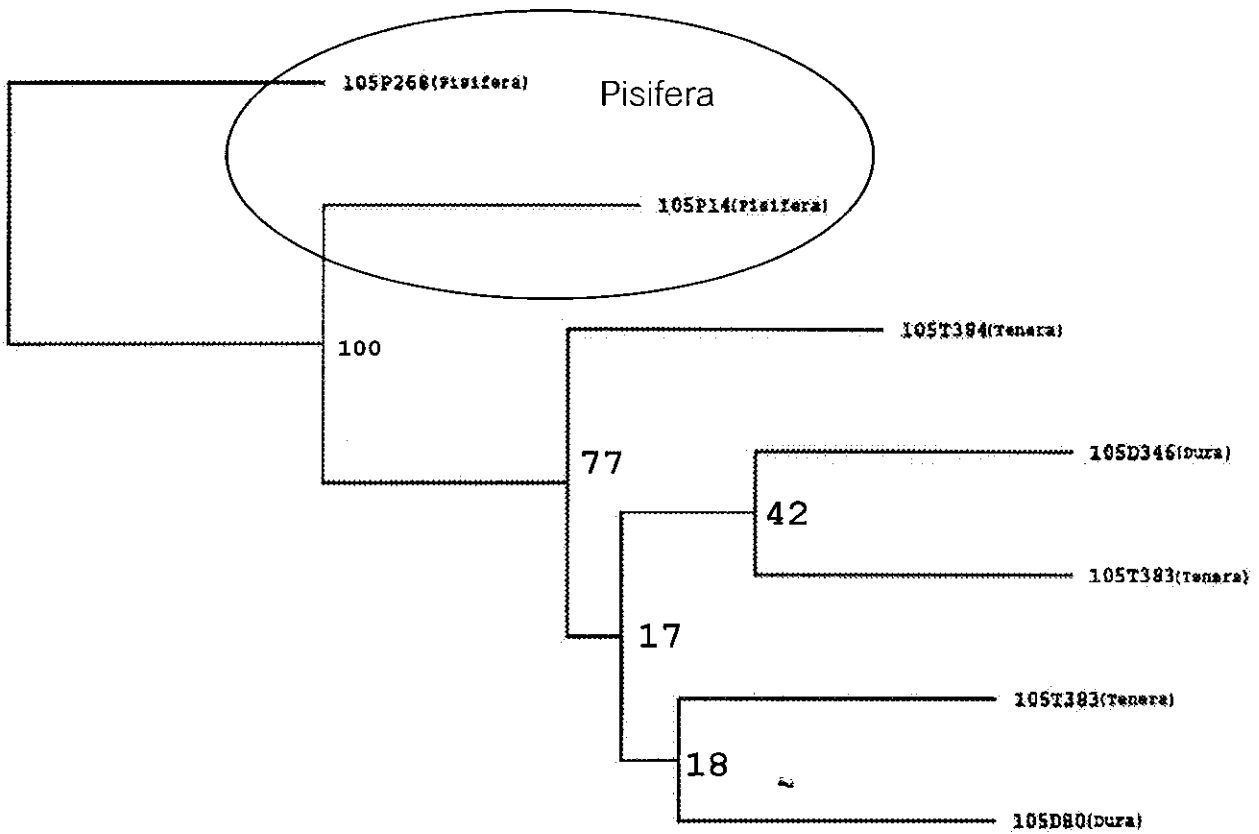


บทที่ 3

ผลการทดลอง

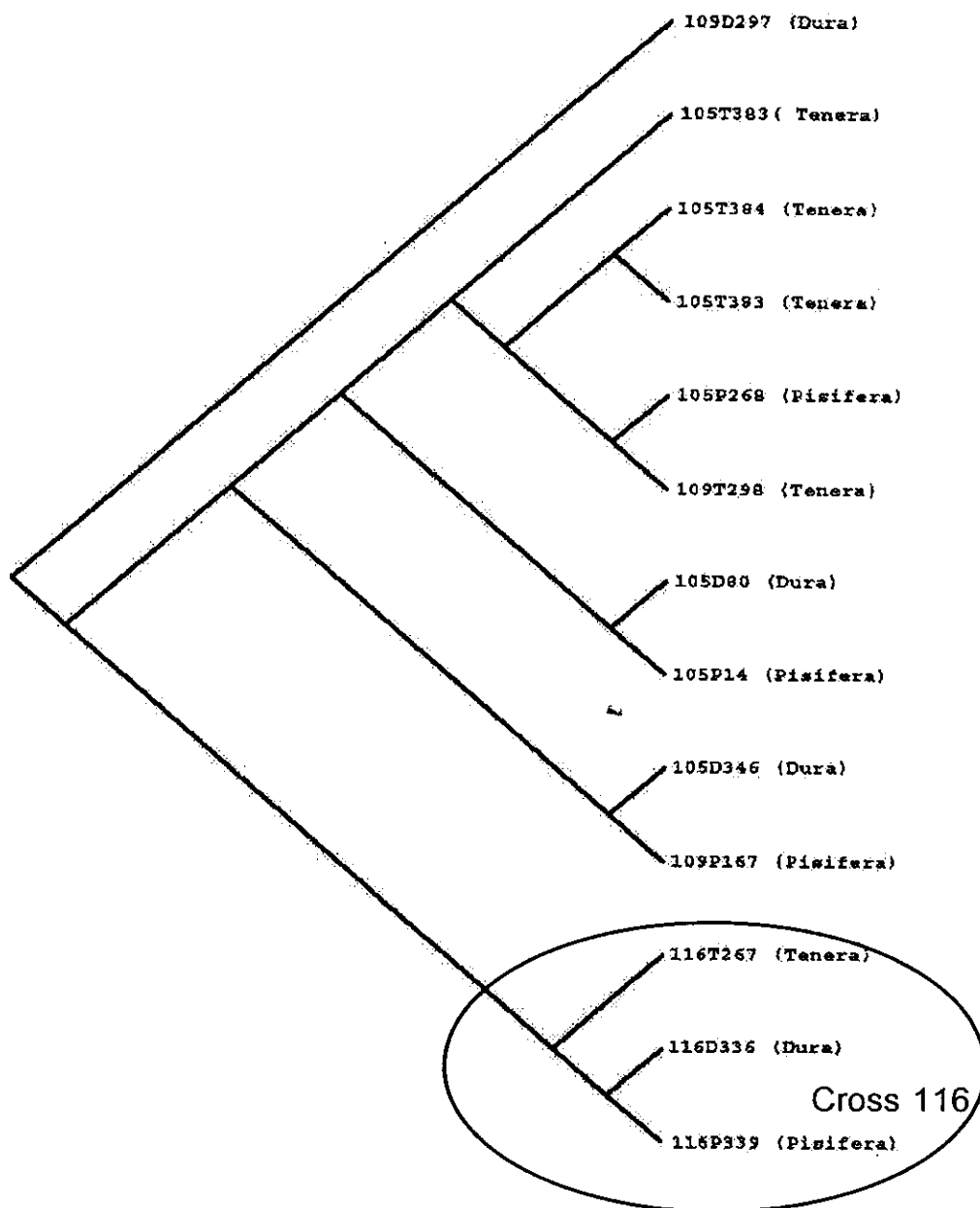
1. การศึกษา Intron ของยีน Malate synthase ในปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค EPIC-PCR

ได้ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน Intron1 ของยีน Malate syntase (MS) จากตัวอย่างดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันที่ได้จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี 3 สายพันธุ์คือ เทเนอรา (Tenera; T) ดุรา (Dura; D) และพิสิเฟอรา (Pisifera; P) โดยใช้ไพรเมอร์ MS400f และ MS487r ที่ออกแบบมาจากส่วนอนุรักษ์ในตำแหน่ง Exon1 และ Exon2 ของยีน Malate synthase ที่พบในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ได้ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 1500 bp เมื่อนำผลผลิต PCR ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเทียบผลกลับไปทีชนาการพบว่าเป็นส่วน Intron ของยีน MS จริง และเพื่อที่จะให้ได้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปาล์มน้ำมัน จึงได้ออกแบบไพรเมอร์คู่ใหม่เป็น MS01 และ MS01r ซึ่งสามารถใช้เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ดีได้ดีเอ็นเอขนาด 900 bp ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อการเปรียบเทียบ นำไพรเมอร์ที่ออกแบบใหม่นี้ไปใช้สำรวจตัวอย่างซึ่งประกอบด้วย 3 กลุ่มสม 105, 109 และ 119 ดังตารางที่ 2.1 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลผลิต PCR จากตัวอย่างปาล์มน้ำมันทั้งหมดไปหาความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม PHYLIP โดยเริ่มวิเคราะห์จากตัวอย่างของกลุ่มสม 105 ก่อน ผลการทดลองในภาพที่ 3.1 แสดงให้เห็นความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ระหว่าง D, T และ P และได้สำรวจความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ เพื่อค้นหานิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะของแต่ละสายพันธุ์ และพบว่าตำแหน่ง 340 และ 345 อาจมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นนิวคลีโอไทด์จำเพาะสำหรับการจำแนก และเมื่อวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์โดยรวมทั้งหมดพบว่าสามารถแยกพิสิเฟอราออกจากดุรา และ เทเนอรา แต่ไม่สามารถแยก ดุรา และ เทเนอราออกจากกัน ดังภาพที่ 3.1 ต่อมาจึงได้ใช้วิธีการข้างต้นสำรวจตัวอย่างจากกลุ่มสม 109 และ 116 อย่างละ 3 ต้นคือ ดุรา พิสิเฟอรา และเทเนอรา (ตารางที่ 2.1) ผลการทดลองพบว่า ณ ตำแหน่ง 340 และ 345 ที่คาดว่าอาจเป็นตำแหน่งจำเพาะสำหรับ พิสิเฟอรา นั้นไม่สามารถใช้ได้ แต่หากเปรียบเทียบความแตกต่างโดยรวมภายในกลุ่มสมเดียวกัน จะสามารถแยกความแตกต่างระหว่าง ดุรา พิสิเฟอรา และเทเนอรา ได้ และเมื่อนำตัวอย่างทั้งหมดมาวิเคราะห์รวมกัน ดังภาพที่ 3.2 จะเห็นความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มสม 105, 109 และ 116 ว่า กลุ่มสม 105 และ 109 มีความใกล้ชิดกันมากจนแยกจากกันด้วย Intron ของยีน MS ไม่ได้ (แต่จากรายงานของ กณพ และคณะ (2546) ระบุว่าสามารถใช้ไพรเมอร์ CAMX1F และ CAMX1R ที่ได้จาก EPIC-PCR ในยีน Calmodulin ในการแยกกลุ่มสม 105 และ 116) แต่จากการศึกษา EPIC-PCR บริเวณ Intron ของยีน MS ด้วยไพรเมอร์ MS01 และ MS01r พบว่าสามารถใช้แยก 116 ออกจากกลุ่มสมอื่น



18

ภาพที่ 3.1 แสดง Phylogenetic Tree จากโปรแกรม PHYLIP ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง ปาล์มน้ำมันภายใน กลุ่มสม 105 คือ 105P268, 105P14, 105T383, 105D346, 105T384, 105D80 และ 105T383

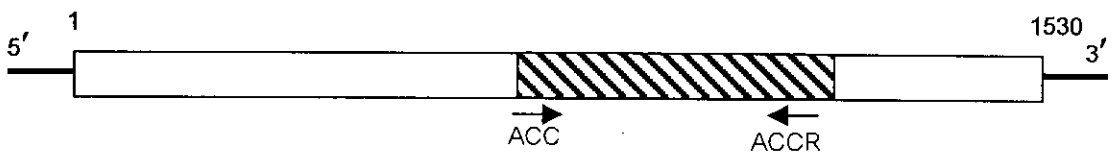


ภาพที่ 3.2 Phylogenetic Tree จากโปรแกรม PHYLIP ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันของตัวอย่างที่ได้มาจากทั้ง 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม 105 (105P268, 105P14, 105T383, 105D346, 105T384, 105D80 และ 105T393), กลุ่ม 109 (109T298, 109P167 และ 109D297) และ กลุ่ม 116 (116T267, 116D336 และ 116P339)

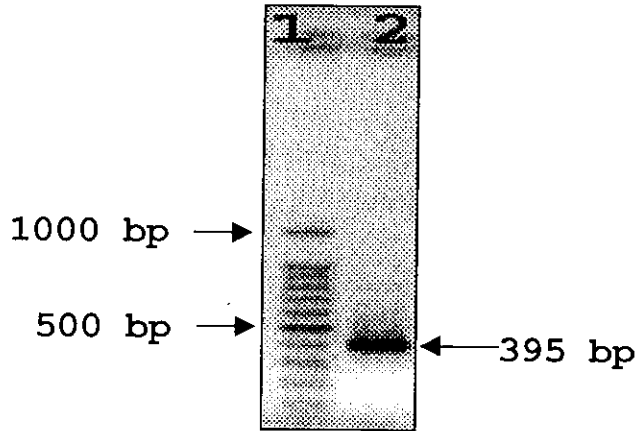
2. การศึกษายีน Acetyl CoA Carboxylase, Carboxyl Transferase subunit beta (*accD*) ในปาล์ม น้ำมัน

2.1 การโคลนยีน *accD*

ทำการออกแบบไพรเมอร์ ACC และ ACCR ของ *accD* จากส่วนอนุรักษ์ยีนที่พบในพืช และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ จำนวน 7 ชนิด ในตำแหน่งดังภาพที่ 3.3 โดยได้ข้อมูลยีนจากฐานข้อมูลธนาคารยีน นำไพรเมอร์มาใช้ทำ RT-PCR จาก Total RNA ที่สกัดจากเนื้อเยื่อ mesocarp ของผลปาล์มน้ำมัน *E. guineensis* อายุ 12 สัปดาห์ (หลังจากการผสม) ได้ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 400 นิวคลีโอไทด์ (ภาพที่ 3.4) เมื่อนำผลผลิต PCR ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่ามีความยาวที่แน่นอนคือ 395 นิวคลีโอไทด์ และเมื่อเทียบผลการแปลรหัสเป็นลำดับกรดอะมิโน (ภาพที่ 3.5) กับฐานข้อมูลธนาคารยีนด้วย BLASTX พบว่าลำดับกรดอะมิโนมีความเหมือน (Identity) เป็น 97% (E-value = $1e^{-56}$), 90% (E-value = $2e^{-56}$) และ 90% (E-value = $3e^{-56}$) กับ *accD* ที่พบใน *Spinacia oleracea* (NP_054945) *Nicotiana tabacum* (NP_054508) และ *Solanum tuberosum* (AAC23997) ตามลำดับ จึงคาดว่าผลผลิตของ PCR ที่ได้น่าจะเป็นยีน *accD* ของปาล์มน้ำมันจริง จึงได้ทดลองสังเคราะห์ยีนให้เต็มดังในหัวข้อต่อไป



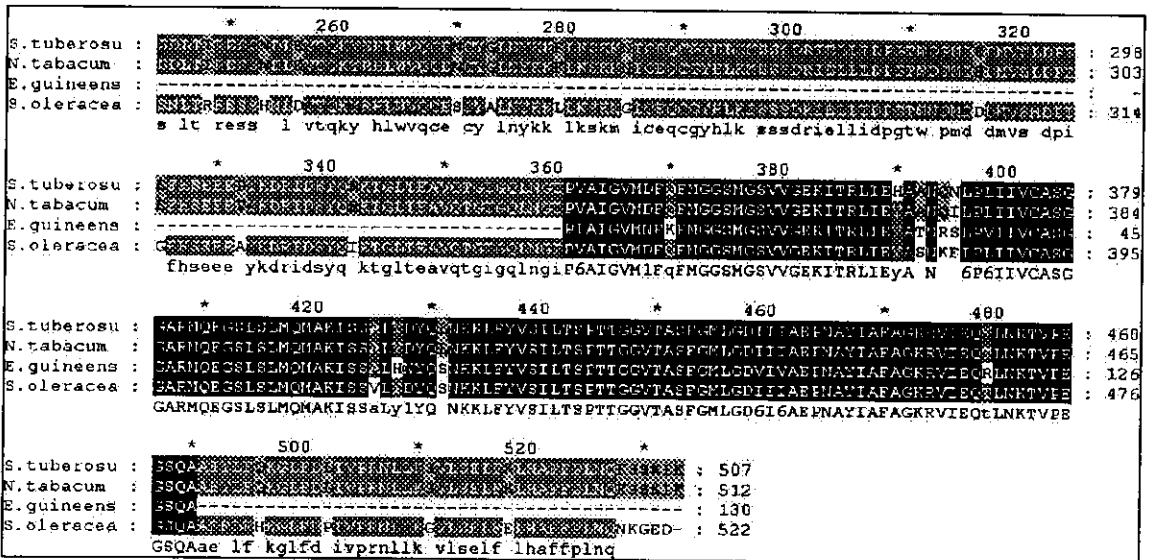
ภาพที่ 3.3 แสดงโครงสร้างของยีน *accD* ที่ได้จาก พืชอื่น และส่วนที่แฉกเงาคือส่วนยีน *accD* จากปาล์มน้ำมันที่ได้จากการทำ RT-PCR ถูกสรแสดงตำแหน่งและทิศทางของไพรเมอร์ ACC และ ACCR ที่ใช้



ภาพที่ 3.4 แสดงผลการทำ RT-PCR เพิ่มจำนวนยีน *accD* ขึ้นมาจากเนื้อเยื่อ mesocarp ของผลปาล์มน้ำมันอายุ 12 สัปดาห์

lane 1 = 100 bp ladder มาตรฐาน

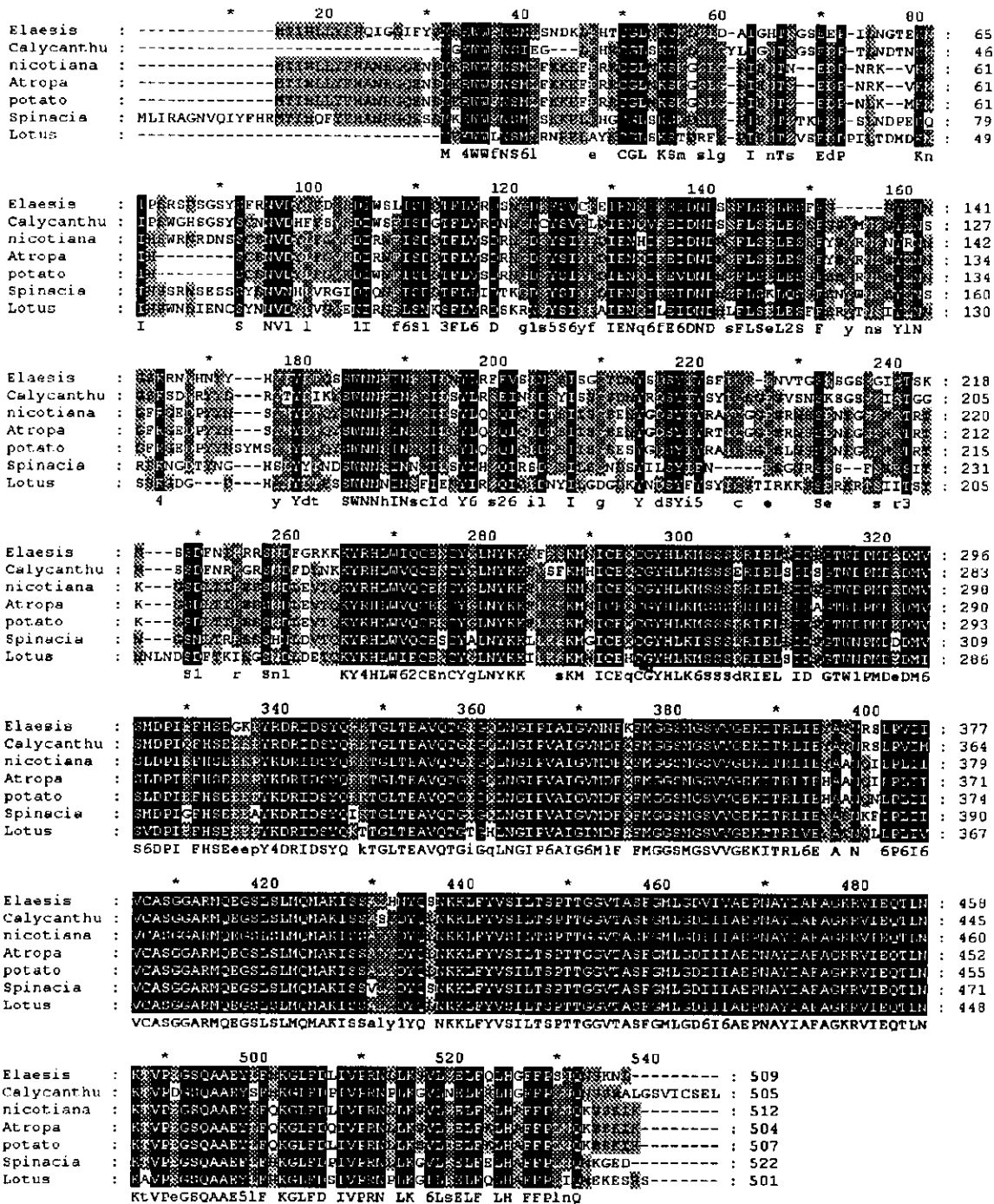
lane 2 = ผลผลิตของยีน *accD* ที่ได้จากการทำ RT-PCR



ภาพที่ 3.5 แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ *accD* ในปาล์มน้ำมันจากการทำ RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ ACC และ ACCR กับลำดับกรดอะมิโนของ *accD* ที่พบในพืชชนิดอื่นๆ สัญลักษณ์ E. guineens = *Elaeis guineensis*, S. oleracea = *Spinacia oleracea* (NP_054945), N. tabacum = *Nicotiana tabacum* (NP_054508), S. tuberosu = *Solanum tuberosum* (AAC23997)

2.2 การสังเคราะห์ cDNA สายเต็ม (Full length cDNA) ของยีน *accD*

จากภาพที่ 3.3 จะเห็นว่าผลผลิต PCR ที่คาดว่าเป็น *accD* ของปาล์มน้ำมัน (*E. guineensis*) อยู่ในส่วนกลางก่อนไปทางปลาย 3' ของยีนจริงจึงได้ออกแบบไพรเมอร์ 3 ACCD1, 3 ACCD2, 5ACCD1, 5 ACCD2, 5 ACCD3, 5ACCD12, 5 ACCD22 และ 5 ACCD32 จากข้อมูลการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ไปใช้ในการทำ 3' RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) และ 5'RACE โดยใช้ตัวอย่างอาร์เอ็นเอชุดเดิมที่สกัดจาก mesocarp ในผลปาล์มน้ำมันอายุ 12 สัปดาห์ได้ดีเอ็นเอเพิ่มทางด้าน 3' และ 5' ขนาด 221 นิวคลีโอไทด์ และ 1007 นิวคลีโอไทด์ นำลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดมาเรียงต่อกันกับพบว่ามีขนาดทั้งหมด 1623 นิวคลีโอไทด์ มี start codon (ATG) ซึ่งจะสามารถแปลเป็นเมทไทโอนีนตัวแรกอยู่ในตำแหน่งที่ 1 และมี stop codon (TAA) ในตำแหน่งที่ 1530 พบส่วนที่เป็น polyA สามารถแปลรหัสของดีเอ็นเอได้เป็นกรดอะมิโนได้ 509 อะมิโน คำนวณค่า pI ได้เป็น 5.29 และคำนวณน้ำหนักโมเลกุลได้เป็น 57.54 กิโลดาลตัน เมื่อนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์ด้วย BLASTX พบว่าลำดับกรดอะมิโนที่ได้มีค่าความเหมือน (Identity) เป็น 76%, 71 %, 69% และ 67 % กับ *accD* ที่พบใน *Calycanthus fertilis* var. *ferax*, *Nicotiana tabacum*, *Spinacia oleracea* และ *Lotus corniculatus* var. *japonicus* (ภาพที่ 3.6) จึงคาดว่ายีนที่โคลนได้ในที่นี้เป็น *accD* จริง โดยมีลำดับกรดอะมิโนทางด้านปลาย COOH เหมือนกับในพืชชนิดอื่นสูงกว่าทางด้านปลาย NH₂



ภาพที่ 3.6 แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ *accD* ของปาล์มน้ำมันกับกรดอะมิโนของ *accD* จากพืชชนิดอื่นๆ สัญลักษณ์ Elaesis = *E. guineensis*, Calycanthu = *Calycanthus fertilis* (NP_862763.1), Nicotiana = *Nicotiana tabacum* (NP_054508), Atropa = *Atropa belladonna* (NP_783241), potato = *Solanum tuberosum* (AIC23997), Spinacia = *Spinacia oleracea* (NP_054945) และ Lotus = *Lotus japonicus* (NP_084807)

2.3 การแสดงออกของ *accD* ในปาล์มน้ำมัน

ได้ศึกษาปริมาณการแสดงออกของ *accD* ในตัวอย่างปาล์มน้ำมันต่าง ๆ ด้วยวิธี RT-PCR จาก Total RNA 500 นาโนกรัมด้วยคู่ไพรเมอร์ ACC กับ ACCR เทียบกับปริมาณแสดงออกของยีน *actin* ที่เพิ่มจำนวนด้วยคู่ไพรเมอร์ 5'-*actin* และ 3'-*actin* ทั้งนี้การแสดงออกของยีน *actin* เป็นตัวเปรียบเทียบมาตรฐาน เพื่อเปรียบเทียบหาค่าปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* ต่อยีน *actin* (*accD/actin*) ด้วยการใช้โปรแกรม Scion image และการเลือกใช้ไพรเมอร์ ACC กับ ACCR ก็เพราะไพรเมอร์คู่นี้ครอบคลุมส่วนอนุรักษ์ของยีน *accD* และจากการเทียบผลผลิตที่ได้จากการทำ RT-PCR ของตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง (ดูรา, เทเนอรา และ พิติเฟอรา) พบว่ามีการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกันทั้ง 3 ตัวอย่าง ในการศึกษาการแสดงออกก่อนอื่นได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* (*accD/actin*) ในเนื้อเยื่อแคลลัสและใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา พบว่าได้ค่าที่ใกล้เคียงกันคือ จากแคลลัสมีค่าเป็น 1.031 และ จากใบปาล์มมีค่า 1.134 (ตารางที่ 3.1) แสดงให้เห็นว่าค่าการแสดงออกยีน *accD* ไม่ได้ขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อที่เอามาศึกษา ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อมาจึงได้เลือกศึกษาการแสดงออกของยีน *accD* จากใบปาล์ม ทั้งนี้เพื่อความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง เลือกตัวอย่างที่นำมาทดสอบสองกลุ่มคือตัวอย่างใบปาล์มที่ปรับปรุงพันธุ์จากภาควิชาพืชศาสตร์คณะทรัพยากรธรรมชาติ จำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ตัวอย่าง 10, 17, 19, 14 และ 20 ได้ค่าปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* (*accD/actin*) ได้เท่ากับ 1.49, 1.14, 1.32, 1.24 และ 1.45 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ย (average) เป็น 1.33 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (STDEV) เป็น 0.145 (ตารางที่ 3.2 และภาพที่ 3.7) และ อีกกลุ่มตัวอย่างคือตัวอย่างที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี จำนวน 9 ตัวอย่างคือ P8, T219, T247, D172, T219, T1501, D1553, T1559 และ T1561 ได้ค่าปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* (*accD/actin*) ได้เท่ากับ 1.065, 0.823, 1.115, 0.745, 0.705, 0.598, 0.817, 0.546 และ 0.553 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ย เป็น 0.774 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 0.207 (ตารางที่ 3.3 และภาพที่ 3.8) ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าที่ได้ระหว่าง 2 กลุ่มตัวอย่าง พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้จากคณะทรัพยากรธรรมชาติจะมีค่าปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* สูงกว่ากลุ่มตัวอย่างจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี คือมีค่าเฉลี่ยเป็น 1.33 ± 0.145 และ 0.774 ± 0.207 ตามลำดับ ในที่นี้กลุ่มตัวอย่างของสุราษฎร์ธานีมีทั้ง ดูรา เทเนอรา และ พิติเฟอรา แต่ค่าการแสดงออกของยีน *accD* มิได้สัมพันธ์กับสายพันธุ์ และเมื่อเทียบกับข้อมูลปริมาณน้ำมันปาล์มที่ได้ต่อทะเลของข้อมูลเฉพาะพันธุ์เทเนอรา ของตัวอย่าง T219, T247, T1501, T1559 และ T1561 ดังตารางที่ 3.4 พบว่าการแปลผลข้อมูลของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีกับการแปลผลของงานวิจัยทางชีววิทยาโมเลกุลยังไม่สอดคล้องกันนักเนื่องจากการระบุปริมาณน้ำมัน 25.760 จัดเป็นผลผลิตต่ำในขณะที่ค่า 28.4 จัดเป็นผลผลิตสูงดังในตัวอย่าง T1501 และ T1561 เมื่อ

พิจารณาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วพบว่าทั้งสองตัวอย่างมีค่าปริมาณน้ำมันปาล์มที่ได้ต่อทะลาย เป็น 23.236-28.284 และ 25.876-30.924 ตามลำดับซึ่งจากค่าดังกล่าวยังไม่มีความแตกต่างยังไม่มากพอที่จะจัดกลุ่มได้เช่นนั้น เพราะเมื่อเปรียบเทียบผลค่าการแสดงออกของยีน *accD* ที่ได้จากสองตัวอย่างดังกล่าวข้างต้นนั้นมีใกล้เคียงกันแต่เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ยังไม่มีข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างของ คณะทรัพยากรธรรมชาติ จึงยังไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ที่แท้จริงได้ แต่ตั้งข้อสังเกตได้ว่าการแสดงออกของยีนมี 2 แบบ ใน 2 กลุ่ม คือค่าการแสดงออกของยีน *accD* สูง และต่ำ ทั้งนี้เป็นเพราะสองกลุ่มมีการปรับปรุงพันธุ์มาต่างกัน โดยพันธุ์ที่คัดเลือกโดยคณะทรัพยากรธรรมชาติมีประวัติความเป็นมาก่อนข้างดี และหากได้ค่าผลผลิตออกมาดี (ซึ่งต้องทำการทดลองต่อไป) ตามการแสดงออกของยีนก็จะสามารถใช้ค่าการแสดงออกนี้เป็นตัวคัดเลือกพันธุ์ที่ดีต่อไปในอนาคตได้

ตารางที่ 3.1 แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของยีน *accD* ต่อ *actin* (*accD/actin*) ด้วยโปรแกรม Scion Image ในเนื้อเยื่อแคลลัสและใบปาล์มน้ำมันพันธุ์เทนอร่า

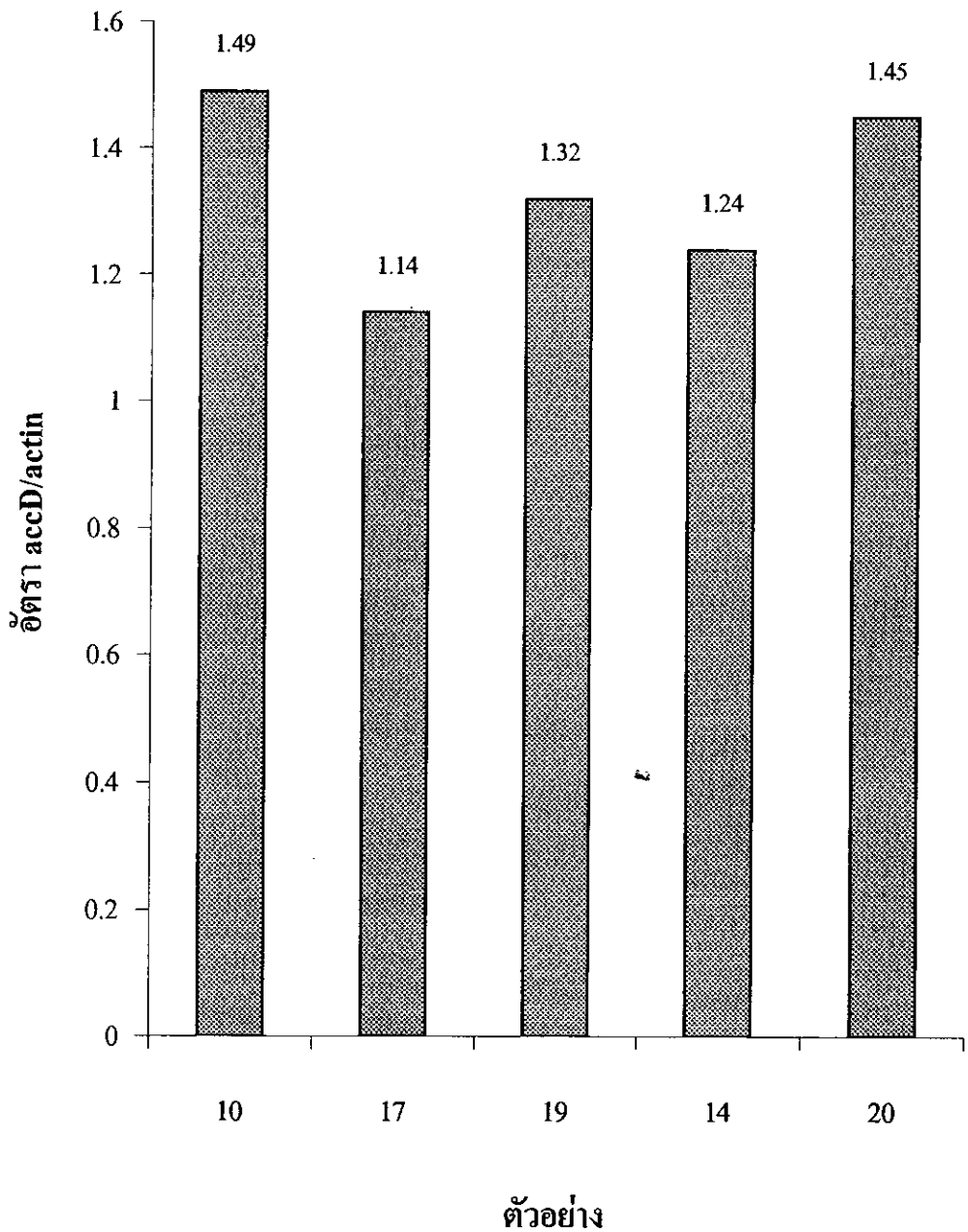
ตัวอย่าง (n=2)	<i>accD/actin</i>
<i>accD callus</i>	1.031
<i>accD leave</i>	1.134

ตารางที่ 3.2 แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ *accD/actin* ด้วยโปรแกรม Scion Image ในใบปาล์มน้ำมันจากการผสมเพื่อคัดเลือกพันธุ์ จากภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

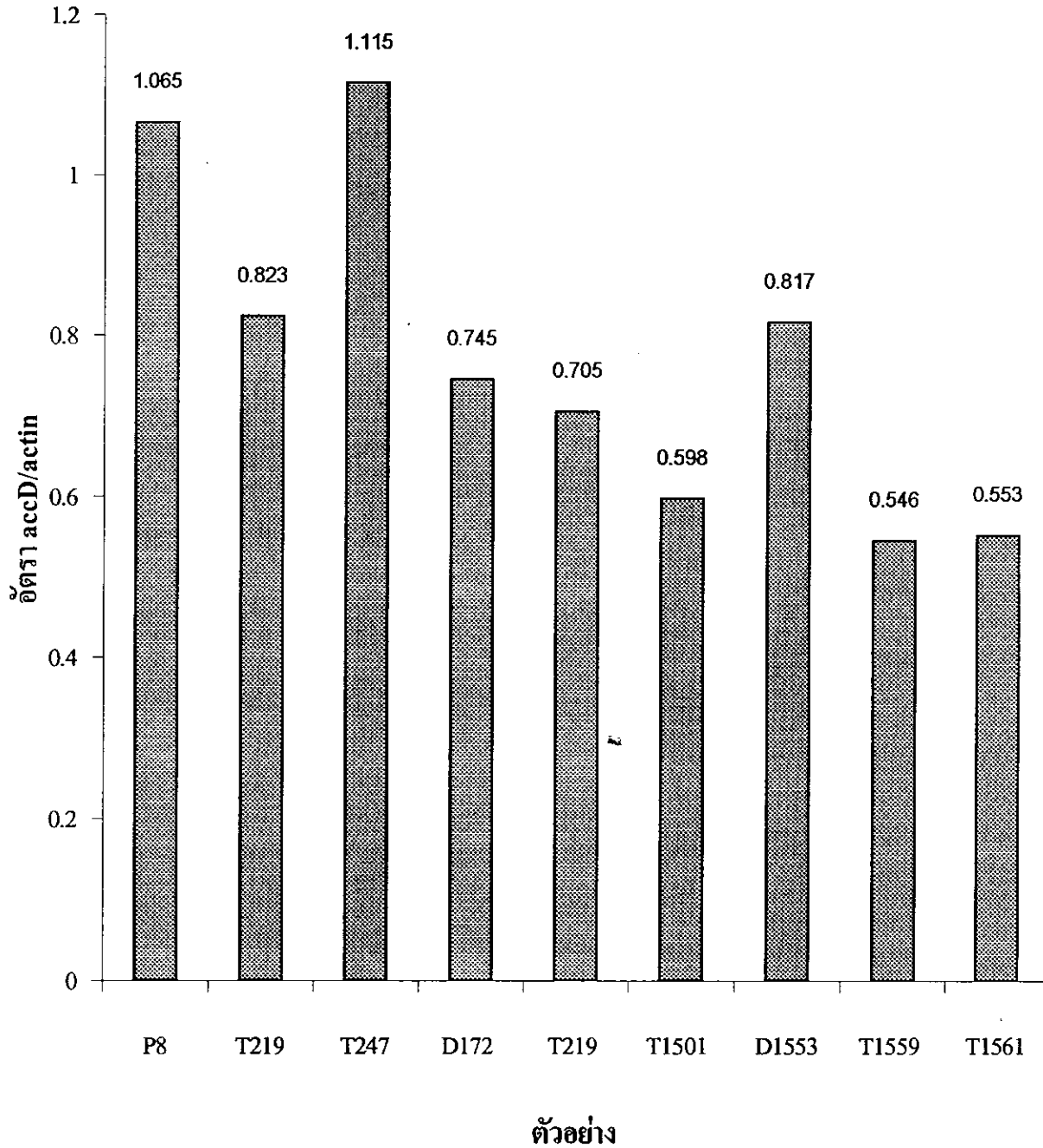
ตัวอย่าง	<i>accD/actin</i>
10	1.49
17	1.14
19	1.32
14	1.24
20	1.45
AVERAGE	1.33
STDEV	0.145

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ *accD/actin* ด้วยโปรแกรม Scion Image ในใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ เทเนอรา (T) ดูรา (D) และ ฟิลิเฟอรา (P) จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี

ตัวอย่าง	<i>accD/actin</i>
P8	1.065
T219	0.823
T247	1.115
D172	0.745
T219	0.705
T1501	0.598
D1553	0.817
T1559	0.546
T1561	0.553
AVERAGE	0.774
STDEV	0.207



ภาพที่ 3.7 แสดงกราฟผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ accD/actin ด้วยโปรแกรม Scion Image ในตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันที่ได้จากการผสมเพื่อคัดเลือกพันธุ์ จากภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ



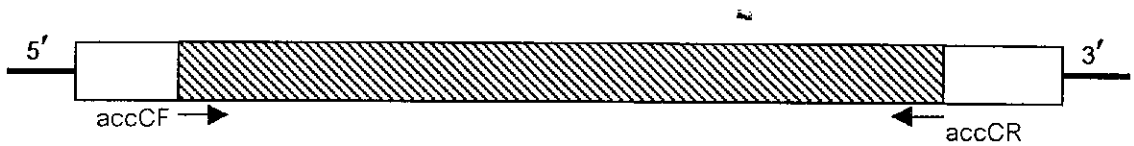
ภาพที่ 3.8 แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ accD/actin ด้วยโปรแกรม Scion Image ในตัวอย่างไบโพลีเมอร์น้ำมันพันธุ์ เทเนอรา (T) ดูรา (D) และ ฟิสิเฟอรา (P) จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 3.4 แสดงข้อมูลค่าปริมาณการแสดงออกของ accD/actin ด้วยโปรแกรม Scion Image และ ปริมาณน้ำมันปลาที่ได้ต่อทะเลของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี

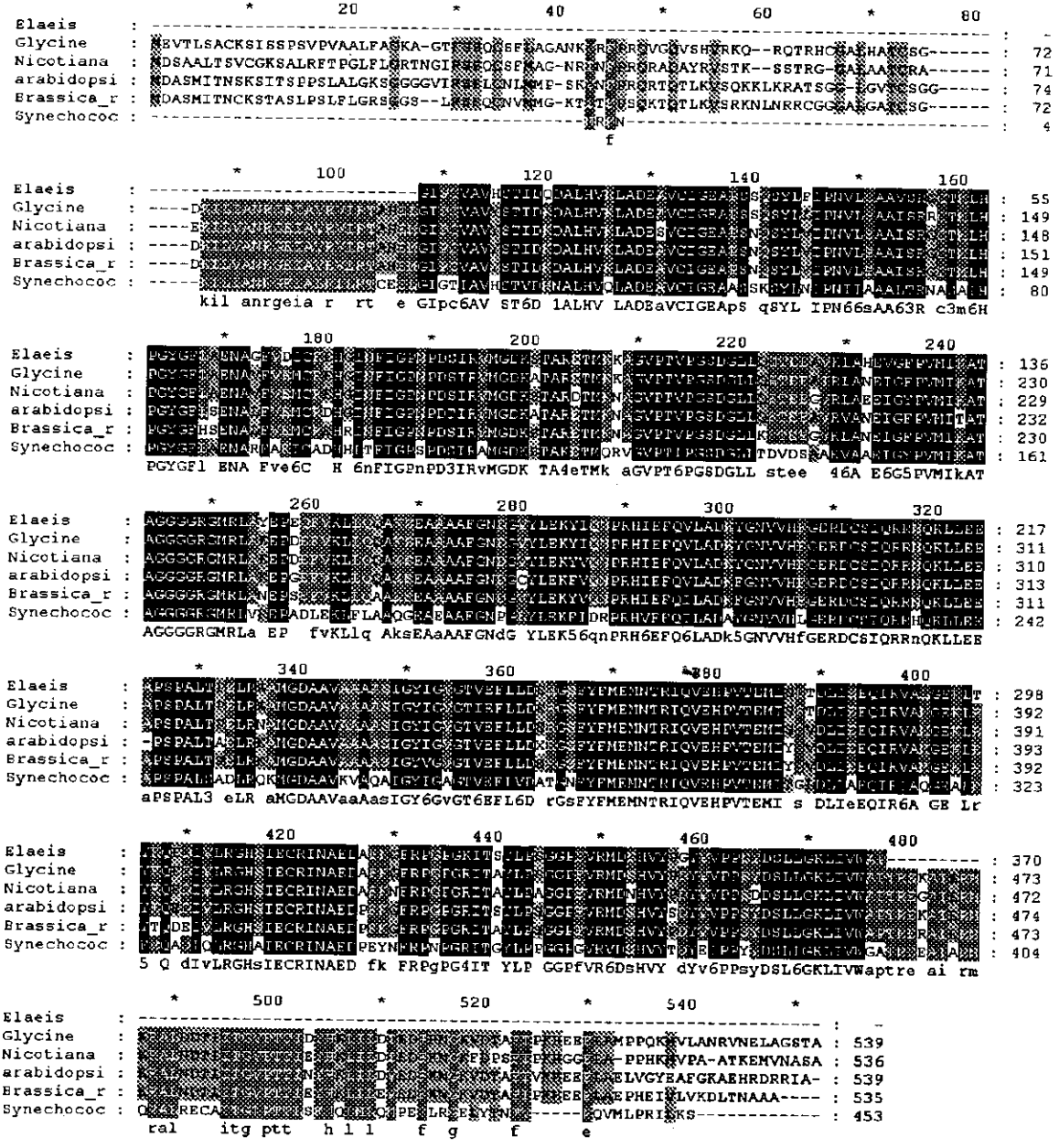
ตัวอย่าง	accD/actin	น้ำมัน/ทะเล
T 1501 L	0.598	25.760
T 1559 H	0.546	30.160
T 1561 H	0.553	28.400
T 219 H	0.705	31.630
AVERAGE	0.601	28.986
S TDEV	0.0734	2.524

3. โคลนยีน Acetyl CoA Carboxylase, Biotin Carboxylase subunit (*accC*) ในปาล์มน้ำมัน

โคลนยีน *accC* ด้วยวิธี RT-PCR จาก Total RNA ที่สกัดจากใบปาล์มน้ำมัน *E. guineensis* โดยใช้ไพรเมอร์ *accCF* และ *accCR* (data not show) ที่ออกแบบมาจากส่วนอนุรักษ์ในยีน *accC* ที่พบในพืชและสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ จำนวน 8 ชนิดจากฐานข้อมูลธนาคารยีนซึ่งแสดงตำแหน่งที่ออกแบบดังภาพที่ 3.9 ได้ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 1200 นิวคลีโอไทด์ เมื่อนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลผลิต PCR พบว่ามีขนาดที่แน่นอนคือ 1112 นิวคลีโอไทด์ แพลร์ทสได้กรดอะมิโน 307 ชนิด และเมื่อเทียบผลการแปลรหัสเป็นลำดับกรดอะมิโน (ภาพที่ 3.10) กับฐานข้อมูลธนาคารยีนด้วย BLASTX พบว่าลำดับกรดอะมิโนมีค่าความเหมือน (Identity) เป็น 84%, 83%, 82% และ 64% กับ *accC* ที่พบใน *Glycine max* (AAC23573.1), *Nicotiana tabacum* (AAC41659.1), *Arabidopsis thaliana* (AF360279_1) และ *Synechococcus* sp. PCC 7942 (AAB88214.1) ตามลำดับ



ภาพที่ 3.9 แสดงโครงสร้างยีน *accC* ที่ได้จากพืชอื่นๆ และตำแหน่งยีน *accC* ที่โคลนได้จากใบปาล์มน้ำมัน (บริเวณที่แรเงา) ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยทิศทางของลูกศรแทนใช้ทิศทางของไพรเมอร์ *accCF* และ *accCR*



ภาพที่ 3.10 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ *accC* ในปาล์มน้ำมัน (*E. guineensis*) ที่ได้จากการทำ RT-PCR กับลำดับกรดอะมิโนของ *accC* ที่ได้จากพืชชนิดอื่นๆ ในฐานข้อมูลของธนาคารยีน โดยสัญลักษณ์ Elaeis = *E. guineensis*, Glycine = *Glycine max* (AAC23573.1), Nicotiana = *Nicotiana tabacum* (AAC41659.1), Arabidopsi = *Arabidopsis thaliana* (AF360279_1) และ Synechococ = *Synechococcus* sp. PCC 7942 (AAB88214.1)