

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการภาพประกอบ	(8)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(10)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	24
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	25
วัสดุ	25
อุปกรณ์	29
วิธีการ	30
3 ผลการทดลอง	43
4 วิเคราะห์ผลการทดลอง	58
5 สรุป	63
เอกสารอ้างอิง	64
ภาคผนวก	72
ประวัติผู้เขียน	78

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
1. ตารางเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ใช้ในการทดลอง	27
2. ใบปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี พันธุ์คูรา เทเนอรา และ ฟิสิเฟอรา ในการศึกษาด้วยเทคนิค EPIC-PCR	27
3. ใบ และผลปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยพืชสวน สุราษฎร์ธานี พันธุ์คูรา เทเนอรา และ ฟิสิเฟอราในการศึกษา ยีน <i>accD</i>	28
4. ปาล์มน้ำมันจาก ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ม. สงขลานครินทร์	28
5. แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของยีน <i>accD</i> ต่อ <i>actin</i> (<i>accD/actin</i>) ด้วยโปรแกรม Scion Image ในเนื้อเยื่อแคลลัสและใบปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา	51
6. แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ <i>accD/actin</i> ด้วยโปรแกรม Scion Image ในใบปาล์มน้ำมันที่ได้จากการผสมเพื่อคัดเลือกพันธุ์ จากภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ	51
7. แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ <i>accD/actin</i> ด้วยโปรแกรม Scion Image ในใบปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี	52
8. แสดงข้อมูลค่าปริมาณการแสดงออกของ <i>accD/actin</i> ด้วยโปรแกรม Scion Image และปริมาณน้ำมันปาล์มที่ได้ ต่อทะลายนของศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี	56

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงขั้นตอนการเปลี่ยนแปลง Acetyl-CoA และ Malonyl-CoA ไปเป็นกรดพาล์มิติก ด้วย ACCase และ FAS	18
2. แสดงแผนผังรูปแบบโครงสร้างของเอนไซม์ ACCase ที่พบได้ในสิ่งมีชีวิต มีสองแบบคือ heteromeric ACCase และ homomeric ACCase	18
3. แผนผังแสดงขั้นตอนวิธีการทดลองในการทำวิจัย	30
4. แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมนิวคลีโอไทด์ทางด้านปลาย 3' ของ cDNA	38
5. แผนผังสรุปขั้นตอนการเตรียมนิวคลีโอไทด์ทางด้านปลาย 5' ของ cDNA	41
6. Phylogenetic Tree จากโปรแกรม PHYLIP ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างพาล์มน้ำมันภายใน กลุ่มสม 105 คือ 105P268, 105P14, 105T383, 105D346, 105T384, 105D80 และ 105T383	44
7. Phylogenetic Tree จากโปรแกรม PHYLIP ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันของตัวอย่างที่ได้มาจากทั้ง 3 กลุ่มสม คือ กลุ่มสม 105 กลุ่มสม 109 1 และ กลุ่มสม 116	45
8. แสดงโครงสร้างของยีน <i>accD</i> ที่ได้จาก พีชอื่นและส่วนที่แรงเงาคือส่วนยีน <i>accD</i> จากพาล์มน้ำมันที่ได้จากการทำ RT-PCR ถูกสรแสดงตำแหน่งและทิศทางของไพรเมอร์ ACC และ ACCR ที่ใช้	46
9. แสดงผลการทำ RT-PCR เพิ่มจำนวนยีน <i>accD</i> ขึ้นมาจากเนื้อเยื่อ mesocarp ของผลพาล์มน้ำมันอายุ 12 สัปดาห์	47
10. แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ <i>accD</i> ในพาล์มน้ำมันจาก RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ ACC และ ACCR กับลำดับกรดอะมิโนของ <i>accD</i> ที่พบในพืชชนิดอื่นๆ	47
11. แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ <i>accD</i> ของพาล์มน้ำมันกับกรดอะมิโนของ <i>accD</i> จากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ	49
12. แสดงกราฟผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ <i>accD/actin</i> ด้วยโปรแกรม Scion Image ในตัวอย่างใบพาล์ม น้ำมันที่ได้จากการผสมเพื่อคัดเลือกพันธุ์ จากภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ	53

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
13. แสดงผลการหาค่าปริมาณการแสดงออกของ <i>accD/actin</i> ด้วยโปรแกรม Scion Image ในตัวอย่างไบโปลาล์มน้ำมันพันธุ์ เทเนอร่า (T) ดูรา (D) และ ฟิสเฟอร่า (P) จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี	54
14. แสดงโครงสร้างยีน <i>accC</i> ที่ได้จากพืชอื่นๆ และตำแหน่งยีน <i>accC</i> ที่โคลนได้จากไบโปลาล์มน้ำมัน (บริเวณที่เร่งเงา) ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยทิศทางของลูกศรแทนใช้ทิศทางของไพรเมอร์ <i>accCF</i> และ <i>accCR</i>	56
15. แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ <i>accC</i> ในไบโปลาล์มน้ำมัน (<i>E. guineensis</i>) ที่ได้จากการทำ RT-PCR กับลำดับกรดอะมิโนของ <i>accC</i> ที่ได้จากพืชชนิดอื่นๆ ในฐานข้อมูลของ ธนาคารยีน	57

ตัวย่อและสัญลักษณ์

α -CT; <i>accA</i>	=	Acetyl-CoA Carboxylase, Carboxyl Transferase alpha subunit
β -CT; <i>accD</i>)	=	Acetyl-CoA Carboxylase, Carboxyl Transferase beta subunit
ACCcase	=	Acetyl-CoA Carboxylase
<i>Adh</i>	=	Alcohol dehydrogenase
AFLP	=	Amplification Fragment Length Polymorphism
ATP	=	Adenosine triphosphate
AUAP	=	Abridged Universal Amplification Primer
BC	=	Biotin Carboxylase
BCCP	=	Biotin Carboxyl Carrier Protein
BSA	=	Bovine serum albumin
bp	=	base pair (s)
<i>Cal</i>	=	Calmodulin
cDNA	=	complementary DNA
cpDNA	=	chloroplast DNA
CT	=	Carboxyl Transferase
dNTP	=	deoxyribonucleoside triphosphate
DTT	=	Dithiothreitol
DNA	=	Deoxyribonucleic acid
EDTA	=	Ethylenediamine tetraacetic acid
EPIC	=	Exon-Primed Intron-Crossing
FAS	=	Fatty acid synthase
<i>G3ph</i>	=	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
ITS	=	Internal Transcribed Spacer
LB	=	Luria-Bertani (medium)
mRNA	=	messenger RNA
Kb	=	kilo base pairs
MS	=	Malate synthase
μ g	=	microgram

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

μl	=	microliter
ng	=	nanogram
nmole	=	nanomole
nrDNA	=	Nuclear ribosomal DNA
O.D.	=	Optical density
ORF	=	Open reading frame
PCR	=	Polymerase chain reaction
PVP	=	Polyvinyl pyrrolidone
pmole	=	picomole
RACE	=	Rapid Amplification of cDNA Ends
RAPD	=	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLPs	=	Restriction Fragment Length Polymorphisms
RNA	=	Ribonucleic acid
RNase A	=	Ribonuclease A
RT	=	Reverse transcriptase
Sh	=	Shell gene
SSRs	=	Simple Sequence Repeats
STR	=	Short Tandem Repeat
Tris-HCl	=	Tris-(hydroxymethyl)-aminoethane hydrochloric acid
U	=	unit (s)
UAP	=	Universal Amplification Primer
v/v	=	Volume per volume
Da	=	Dalton
TdT	=	terminal deoxynucleotidyl transferase