สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการภาพประกอบ	(8)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(10)
บทที่	
1. บทนำ	1
* บทนำต้นเรื่อง	1
บทตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	19
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	20
วัสดุ	20
อุปกรณ์	24
วิธีการ	25
3. ผลการทดลอง	39
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	61
5. สรุป และข้อเสนอแนะ	66
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	76
ประวัติผู้เขียน	81

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของโพลิอะคริลาไมด์เจลแบบมีเอสดีเอส (SDS-PAGE)	36
2	แสดงจำนวนโคลนและเปอร์เซ็นต์ในแต่ละกลุ่มยีนตามหน้าที่	39
3	แสดงโคลนต่างๆ ที่เป็น Full length cDNA จากการทำ cDNA library	43

รายการภาพประกอบ

รูปที่		หน้า
1	แสดงกระบวนการสร้างยาง (Mevalonate and DXP/MEP pathway)	5
2	แสดงโครงสร้างของ phaseollin และ phloretin	10
3	การแบ่งชั้นของผนังเซลล์พืชและองค์ประกอบที่สำคัญในแต่ละชั้น	14
4	สูตรโครงสร้างของเพคติน	15
5	แผนภูมิรูปวงกลมแสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนโคลนในแต่ละกลุ่มยีนตามหน้าที่	40
6	แสดงทิศทางการเพิ่มจำนวนของยีน pectate lyase ด้วยเทคนิค 5′ RACE	44
7	แสดงแถบดีเอ็นเอของยีน Pectate lyase จากการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR วิเคราะห์บน 1.2% agarose gel electrophoresis	45
8	เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ full length cDNA ที่ได้จากการ RACE ของยีน pectate lyase จากยางพารา (*Hevea brasiliensis*) กับ pectate lyase ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ	46
9	แสดงแถบดีเอ็นเอของยีน Pectate lyase จากการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค RT-PCR วิเคราะห์บน 1.2% agarose gel electrophoresis	47
10	เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน Hb-Pel-1 และHb-Pel-2 กับ pectate lyase ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ	49
11	แสดงแถบดีเอ็นเอของการตัดพลาสมิดเวคเตอร์ pGEX-4T-1 ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะของโคลนที่มียีน Hb-Pel-1 วิเคราะห์บน 1.2% agarose gel electrophoresis	51
12	แสดงแถบดีเอ็นเอของการตัดพลาสมิดเวคเตอร์ pGEX-4T-1 ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะของโคลนที่มียีน Hb-Pel-2 วิเคราะห์บน 1.2% agarose gel electrophoresis	52
13	การวิเคราะห์การสร้างโปรตีน GST และ GST-Hb-Pel-1 ในส่วนที่ไม่ละลายในแบคทีเรีย *E. coli* สายพันธุ์ BL21 ด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลแบบมีเอสดีเอส (12% SDS-PAGE) ย้อมด้วยสี coomassie brilliant Blue	54

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
14	การวิเคราะห์การสร้างโปรตีน GST และ GST-Hb-Pel-2 ในส่วนที่ไม่ละลายในแบคทีเรีย *E. coli* สายพันธุ์ BL21 ด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลแบบมีเอสดีเอส (12% SDS-PAGE) ย้อมด้วยสี coomassie brilliant Blue	55
15	การวิเคราะห์การสร้างโปรตีน GST และ GST-Hb-Pel-1 ในส่วนที่ละลายในแบคทีเรีย *E. coli* สายพันธุ์ BL21 ด้วยวิธีโพลีอะคริลาไมด์เจลแบบมีเอสดีเอส (12% SDS-PAGE) ย้อมด้วยสี coomassie brilliant Blue	56
16	แสดงค่า % Relative activity ของโปรตีนลูกผสม GST-Hb-Pel-1 เมื่อนำมาศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยทำการศึกษาค่าพีเอชช่วง 3-11	58
17	แสดงค่า % Relative activity ของโปรตีนลูกผสม GST-Hb-Pel-1 เมื่อนำมาศึกษาผลของความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ใช้ความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ช่วง 0-2 mM	59
18	แสดงค่า relative mRNA expression level ของยีน pectate lyase ในน้ำยางพาราของต้นยางพาราที่มีระยะเวลาการกรีดแตกต่างกัน โดยทำการทดลองใน 5 กลุ่มทดลอง	60

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

µl	=	microlitre
µg	=	microgram
%	=	percent
AMV	=	avian myeloblastosis virus
β	=	beta
bp	=	basepair
BSA	=	Bovine serum albumin
cDNA	=	complementary deoxyribonucleic acid
DEPC	=	Diethylpyrocarbonate
DNA	=	deoxyribonucleic acid
dNTP	=	deoxyribonucleoside triphosphate
DTT	=	Dithiothreitol
EDTA	=	Ethylenediaminetetraacetic acid
EST	=	Expressed sequence tag
IUPAC	=	International Union of Pure and Applied Chemistry
Kb	=	kilobase
kDa	=	kilodalton
LB	=	Luria Bertaini
mg	=	milligram
min	=	minute(s)
ml	=	milliliter
mM	=	millimolar
M	=	Molar
mRNA	=	messenger ribonucleic acid
nm	=	nanometer
OD	=	optical density
PBS	=	phosphate buffer saline
PCR	=	Polymerase Chain Reaction

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ (ต่อ)

pfu	=	plaque form unit
pH	=	-Log hydrogen ion concentration
RACE	=	Rapid Amplification of cDNA Ends
RNA	=	ribonucleic acid
RNase A	=	Ribonuclease A
RNaseH	=	Ribonuclease H
RT-PCR	=	Reverse transcription polymerase chain reaction
SDS	=	Sodium dodecyl sulfate
TEMED	=	N,N,N′,N′-tetrametyl-ethylenediamine
Tris-HCl	=	Tris (hydroxymethyl) aminoethane hydrochloric acid
U	=	unit (s)
v/v	=	volume/volume
w/v	=	weight/volume