บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การโคลนฮอร์โมนที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของรังไข่กุ้งแชบ๊วย

จากการเตรียม phage library พบว่ามี ปริมาณของ phage เป็น 2.5X 10^5 pfu/ml เมื่อเพิ่มปริมาณ phage library ได้จำนวน 3.5X10^8 pfu/ml

จากการเตรียมตัวตรวจจับโดยการทำ PCR ด้วย primer จำเพาะ G12 กับ oligo (dT) พบว่าโคลน oli 1 ซึ่งมีลำดับเบส 245 bp และลำดับกรดอะมิโนคล้ายกับโปรตีนในกลุ่ม CHH/MIH/GIH family คือ GNRDIYKKVVRVCEDCTNIFRLPGLDGMCR เป็นต้น มีลำดับเบสคล้ายกับ GIH ของกุ้ง lobster *H. americanus* (De Kleijn *et al.*, 1994) ถึง 48% มีลำดับเบสคล้ายกับ MIH ของกุ้ง *P. japonicus* (Ohira *et al.*,1997) ถึง 51 % และมีลำดับเบสคล้ายกับ CHH ของกุ้ง *M. ensis* (Gu and Chan, 1998) ถึง 47%

เมื่อทำการตรวจจับ DNA จาก phage library โดย oli 1 probe พบ positive clone ใน primary plate แต่เมื่อทำการตรวจจับครั้งที่ 2 ปรากฏว่าไม่พบ positive plaque ของ cDNA เป้าหมาย

จากการเตรียม cDNA ขึ้นใหม่โดยวิธี GeneRacer ™ พบ 11 โคลนที่สามารถจับกับตัวตรวจจับ แต่เมื่อหาลำดับเบสแล้วเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับธนาคารยีน พบว่าทั้ง 11 โคลนไม่อยู่ใน CHH/MIH/GIH family

5.2 การผลิตแอนติซีรัมต่อไวเทลลินของกุ้งแชบ๊วย

โปรตีน vitellin ที่แยกโดย FPLC โดยคอลัมน์ superose 12 HR 10/30 สามารถย้อมติดสีย้อมโปรตีน, ไขมัน และน้ำตาล มีน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งคำนวณจากการทำ FPLC ได้ 352±7.4 กิโลดาลตัน และมีหน่วยย่อย 6 หน่วยจากการทำ SDS-PAGE ขนาดโมเลกุล 101±4.1, 88±3.5, 79±1.6, 61±1.9, 55±4.8 และ 47±0.9 กิโลดาลตัน ซึ่งรวมน้ำหนักโมเลกุลได้ 431±12 กิโลดาลตัน เมื่อนำโปรตีน vitellin มาผลิตแอนติซีรัมที่ความเข้มข้นแอนติซีรัม 1:8 สามารถวัดความเข้มข้นของ โปรตีน vitellin ในช่วง 62.5-500 ng/ml แอนติซีรัมมีความจำเพาะต่อโปรตีน vitellin ในรังไข่ แต่ไม่พบโปรตีนที่จำเพาะต่อแอนติซีรัมในโปรตีนจาก hepatopancreas

5.3 การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวภาพของโปรตีนที่แยกจากก้านตาต่อการสร้างโปรตีนไข่

สารตัวอย่างจากก้านตาซึ่งแยกโดย HPLC (วรวิทย์ ฉิมเพ็ชร, ข้อมูลเตรียมวิทยานิพนธ์) เมื่อทดสอบปฏิกิริยาทางชีวภาพ พบว่า peak ที่ 3 มีปฏิกิริยาของ GSH, peak 5 และ 6 มีปฏิกิริยาของ GIH