สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบาญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการรูป	(8)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(11)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	26
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	27
วัสดุ	27
อุปกรณ์	30
วิธีการ	31
3. ผลการทดลอง	53
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	81
5. สรุปผลการทดลอง	89
เอกสารอ้างอิง	91
ภาคผนวก	102
ประวัติผู้เขียน	110

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สภาวะในการทำ PCR	36
2.2 แสดงส่วนผสมในการทำ PCR เพื่อหาลำดับเบส	39
2.3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการทำ PCR เพื่อหาลำดับเบส	39
2.4 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยาการตัดพลาสมิดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ	41
2.5 แสดงสภาวะที่ใช้ในการทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ cDNA	45
2.5 ส่วนประกอบของ Separating gel สำหรับ Native-PAGE และ SDS- PAGE	49
2.6 ส่วนประกอบของ Stacking gel สำหรับ Native -PAGE และ SDS- PAGE	49
3.1 แสดงการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้งมีหน่วยเป็น dpm/mg protein ซึ่งได้จากการทำ total protein precipitation	74
3.2 แสดง % inhibition ของการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง ซึ่งได้จากการทำ total protein precipitation	75
3.3 แสดงการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง จากการทำ immonoprecipitation มีหน่วยเป็น dpm/mg protein	78
3.4 แสดงค่า % inhibition ของการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง จากการทำ immonoprecipitation	79
3.5 แสดงการเปรียบเทียบโปรตีนที่สร้างใหม่ระหว่างโปรตีนทั้งหมดและโปรตีน vitellin	80

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1.1 (A) กุ้งแชบ๊วย *Penaeus merguiensis* (B) สันฐานวิทยาของกุ้ง	5
1.2 วงจรชีวิตของกุ้งแชบ๊วย	8
1.3 แสดงอวัยวะเพศผู้ และอวัยวะเพศเมีย	10
1.4 แสดงรังไข่ของกุ้งทะเล	12
1.5 แสดงระยะการพัฒนาของรังไข่	13
1.6 แสดงตำแหน่งของ X-organ และ sinus gland ในก้านตากุ้ง	20
1.7 แสดงการเปรียบเทียบ การเรียงตัวของกรดอะมิโนของโปรตีนในกลุ่ม CHH/MIH/GIH family	21
1.8 แสดงแหล่งที่ผลิตฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ใน Crustaceans และเนื้อเยื่อเป้าหมาย	22
1.9 กราฟแสดงปริมาณ MIH, MH, GIH และ GSH ในเลือดในช่วงการออกไข่ (R) และในช่วงการลอกคราบ	24
1.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างรอบการลอกคราบ และรอบการสร้างไข่	25
3.1 แสดงแถบของ DNA ที่เกิดจากการทำ PCR ระหว่าง primer G12 กับ oligo (dT) โดยใช้ cDNA เป็น template แยกบน 1.5 % agarose gel electrophoresis	55
3.2 แสดงผล DNA oli 1 ซึ่งอยู่ในเวกเตอร์ pGEM-T easy เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ *EcoR* I แยกบน 1.5 % agarose gel electrophoresis	56
3.3 ภาพแสดงลำดับเบสของ DNA oli 1	57

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.4 แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ DNA oli 1 กับลำดับกรดอะมิโนของ CHH/MIH/GIH family	58
3.5 แผ่น X-ray film จากการทำ hybridized ครั้งที่ 1	60
3.6 การแยกโปรตีน vitellin จากไข่กุ้งแชบ๊วยโดย เครื่อง FPLC คอลัมน์ superose 12 HR 10/30 ชะด้วย PBS ด้วยอัตราเร็ว 0.5 มิลลิลิตรต่อนาทีโปรตีนที่ได้แต่ละ fraction นำมาหาปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry's	62
3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานกับค่า Kav ของการแยกสารมาตรฐานด้วยเครื่อง FPLC คอลัมน์ superose 12 HR 10/30	63
3.8 แสดงแถบโปรตีนจากการทำ Native-PAGE บน 7% acrylamide gel A แสดงการย้อมน้ำตาลด้วยสีย้อม PAS B แสดงการย้อมไขมันด้วยสีย้อม Sudan Black B C แสดงการย้อมโปรตีนด้วยสีย้อม โคแมสซีบลู	65
3.9 แถบโปรตีนจาก fraction 6 ที่ได้ทำการแยกบน 10 % SDS-PAGE	66
3.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานกับการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) ใน 10% SDS	67
3.11 กราฟแสดง Standard Vitellin	69
3.12 แสดง immunoblotting	70
3.13 แสดงการแยกโปรตีนจากก้านตากุ้งแชบ๊วยด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ คอลัมน์ μBondapak-Phenyl	73

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.14	กราฟแสดง การยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้งมีหน่วยเป็น dpm/mg protein ซึ่งได้จากการทำ total protein precipitation	74
3.15	กราฟแสดงค่า % inhibition ของการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง ซึ่งได้จากการทำ total protein precipitation	75
3.16	กราฟแสดงการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง จากการทำ immonoprecipitation มีหน่วยเป็น dpm/mg protein	78
3.17	กราฟแสดงค่า % inhibition ของการยับยั้งการสร้างโปรตีนของชิ้นรังไข่กุ้งโดยโปรตีนที่แยกจากก้านตากุ้ง จากการทำ immonoprecipitation	79

ตัวย่อและสัญลักษณ์

DNA	=	deoxyribonucleic acid
RNA	=	ribonucleic acid
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
bp	=	basepair
pH	=	-log hydrogen ion concentration
β	=	beta
µl	=	microlitre
µg	=	microgram
ml	=	milliltre
mM	=	millimolar
ng	=	nanogram
mg	=	milligram
MW	=	molecular weight
^{o}C	=	degree Celsius
OD	=	optical density
%	=	percent
CHH	=	crustacean hyperglycemic hormone
MIH	=	molt inhibiting hormone
MH	=	molting hormone
GIH	=	gonad inhibiting hormone
VIH	=	vitellogenin inhibiting hormone
VSH	=	vitellogenin stimulating hormone
GSH	=	gonad stimulating hormone

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

MF	=	methyl farnesoate
MO	=	mandibular organ
EDC	=	edcysones
HP	=	hepatopancreas
ThG	=	thoracic ganglion
E	=	ecdysis
O	=	ovipósition
OC	=	ovarian cycle
PR	=	premolt
PT	=	postmolt
IM	=	intermolt
COG	=	continuous oocyte growth
PAGE	=	polyacrylamide gel electrophoresis
λ	=	lamda
PAS	=	periodic acid leucofuchsin
IgG	=	immunoglobulin G
SAT	=	subepidermal adipose tissue
RP-HPLC	=	reverse-phase high perssure liquid chromatography
DEPC	=	diethyl pyrocabonate
cDNA	=	complementary DNA
MMLV-RT	=	moloney murine leukemia virus-reverse transcriptase
DTT	=	dithiothreitol
dNTP	=	deoxynucleoside triphosphate

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

Pfu	=	plague forming unit
UV	=	ultraviolet
U	=	unit
LB	=	Luria Bertaini
FPLC	=	fast protein liquid chromatography
PBS	=	phosphate buffered saline
PNPP	=	p-Nitro-phenyl phosphate
NB	=	nutrient broth
Kav	=	distribution coefficient
TFA	=	trifluoroacetic acid
dpm	=	disintegration per min