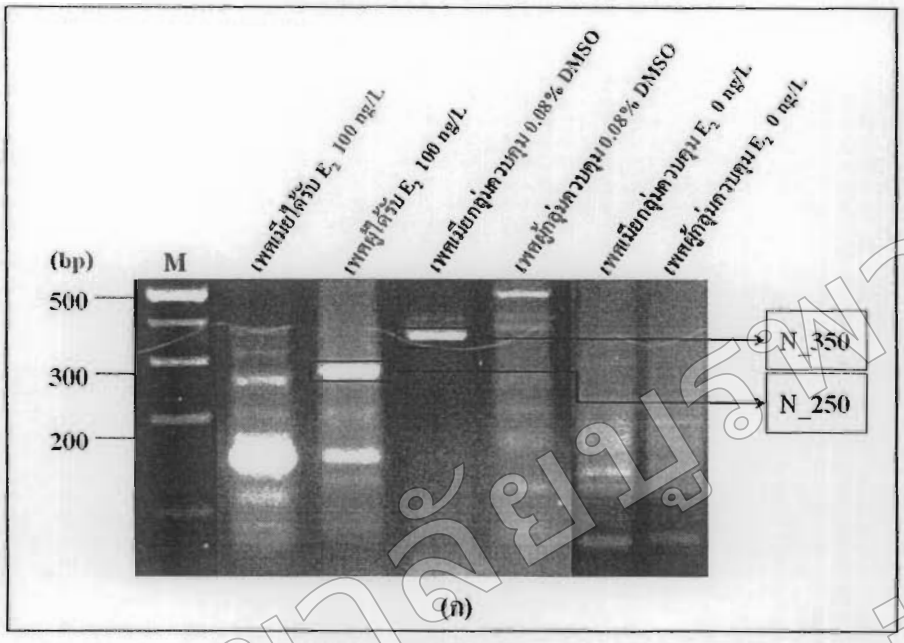
ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ทางสถิติ (เพิ่มเติม)

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University



(ก)

```
>gb|EGP46290.1| putative glycosyl transferase [Achromobacter xylosoxidans AXX-A]
Length=344

 Score = 39.7 bits (91),  Expect = 0.041
 Identities = 18/64 (28%), Positives = 30/64 (47%), Gaps = 0/64 (0%)
 Frame = -3

Query  245  IERAHHWHNTSRYIGMHFVKSAYVLFLDVDEVIDGCKKRWLRTDLYCQFDCLHFFAYRY  66
            I +AH     +R  G+    +  ++ F D D+V+     + +W E  + Q  D L   AYR+
Sbjct  69   IRQAHLGQGAARNIGLQAARGTWIAFADADDVLSAAALARWCEQAVSQDLDVLIGNAYRF  128
```

(ข)

```
>gb|DQ132955.1| Penaeus monodon clone 078 AFLP marker mRNA sequence
Length=151

 Score = 67.6 bits (36),  Expect = 1e-07
 Identities = 36/36 (100%), Gaps = 0/36 (0%)
 Strand=Plus/Plus

Query  320  AGTTACTCAGGACTCATCGTGACTGCGTACCAATTC  355
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  50   AGTTACTCAGGACTCATCGTGACTGCGTACCAATTC  85
```

(ค)

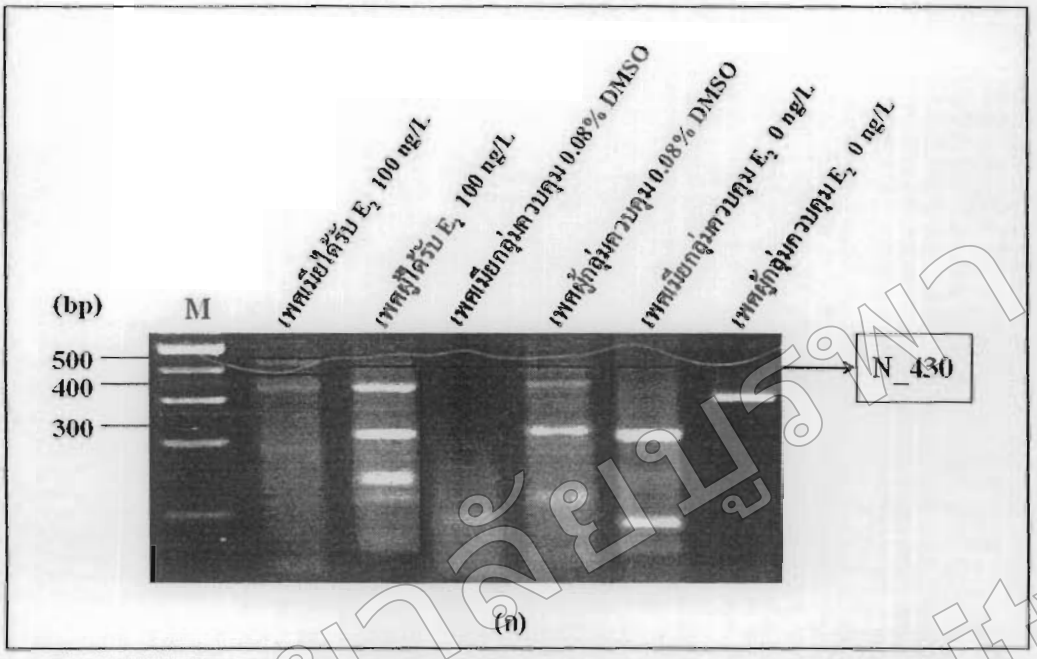
ภาพที่ ผก-1 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ของหอยเจดีย์ที่ได้รับสาร E_2 100 ng/L เพศเมียและเพศผู้ โดยใช้ไพรเมอร์ EcoAAG/MseCTA

ก) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ตรวจสอบด้วย 1% อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟลิซิสที่ความต่างศักย์ 50 โวลต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder plus)

(ข) การเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบ N_250 โดยใช้โปรแกรม blastx

(ค) การเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบ N_350 โดยใช้โปรแกรม blast

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



(ก)

```
>[ gb|AC023150.5| ] Homo sapiens BAC clone RP11-709L9 from 4, complete sequence
Length=188703

 Score =  224 bits (121),  Expect = 1e-55
 Identities = 121/121 (100%), Gaps = 0/121 (0%)
 Strand=Plus/Minus

Query  14      TAACTTTTTCCATCACTTTCAGATCAATTACCTTGAGCTGCAAACAAAAGAACGAACTCC  73
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  113676  TAACTTTTTCCATCACTTTCAGATCAATTACCTTGAGCTGCAAACAAAAGAACGAACTCC  113617

Query  74      AGCCTCATTTAGTGCCAAATGTGTTATGGCAAGGTGTATCAAACCTTGACATGGTGGGAA  133
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  113616  AGCCTCATTTAGTGCCAAATGTGTTATGGCAAGGTGTATCAAACCTTGACATGGTGGGAA  113557

Query  134     C  134
               |
Sbjct  113556  C  113556
```

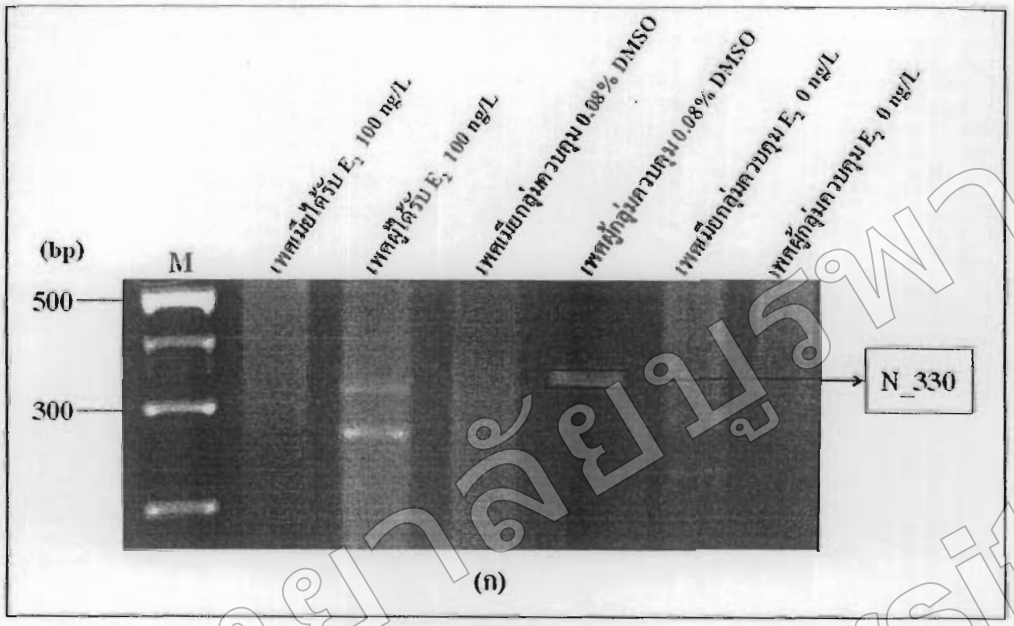
(ข)

ภาพที่ ผก-2 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ของหอยเจดีย์ที่ได้รับสาร E_2 100 ng/L เพศเมียและเพศผู้ โดยใช้ไพรเมอร์ EcoACG/MseCTT

ก) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ตรวจสอบด้วย 1% อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟลิซิสที่ความต่างศักย์ 50 โวลต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder plus)

(ข) การเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบ N_430 โดยใช้โปรแกรม blast

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



(ก)

gb|EC132955.1| Penaeus monodon clone 078 APLP marker mRNA sequence
Length=192

Score = 65.8 bits (35), Expect = 2e-07
Identities = 35/35 (100%), Gaps = 0/35 (0%)
Strand=Plus/Minus

```
Query  278  GAATTGGTACGCAGTCACGATGAGTCCTGAGTAAC  312
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  85   GAATTGGTACGCAGTCACGATGAGTCCTGAGTAAC  51
```

(ข)

ภาพที่ ผก-3 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ของหอยเจดีย์ที่ได้รับสาร E_2 100 ng/L เพศเมียและเพศผู้ โดยใช้ไพรเมอร์ EcoACG/MseCTA

ก) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา cDNA-AFLP ตรวจสอบด้วย 1% อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟลิซิสที่ความต่างศักย์ 50 โวลต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (M คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder plus)

(ข) การเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบ N_330 โดยใช้โปรแกรม blast

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ผก-4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่อระดับการแสดงออกของยีน tranaposase ในเนื้อเยื่อเท้าของหอยเจดีย์ตัวเต็มวัย

เพศ	ระยะเวลารับสาร E_2 (วัน)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
เมีย	7	Between Groups	1.530	2	.765	554.764	.000
		Within Groups	.007	4	.001		
		Total	1.537	6			
	14	Between Groups	.521	2	.260	34.523	.001
		Within Groups	.038	5	.008		
		Total	.558	7			
	30	Between Groups	.528	2	.264	43.770	.001
		Within Groups	.030	5	.006		
		Total	.558	7			
ผู้	7	Between Groups	1.621	2	.811	47.259	.002
		Within Groups	.069	4	.017		
		Total	1.690	6			
	14	Between Groups	2.644	2	1.322	33.809	.003
		Within Groups	.156	4	.039		
		Total	2.800	6			
	30	Between Groups	.232	2	.116	145.045	.000
		Within Groups	.003	4	.001		
		Total	.235	6			

Sig= significance

ตารางที่ ผก-5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่อระดับการแสดงออกของยีน tranaposase ในเนื้อเยื่อสมองของหอยเจดีย์ตัวเต็มวัย

เพศ	ระยะเวลารับสาร E_2 (วัน)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
เมีย	7	Between Groups	.282	2	.141	4.905	.055
		Within Groups	.172	6	.029		
		Total	.454	8			
	14	Between Groups	.147	2	.073	16.099	.007
		Within Groups	.023	5	.005		
		Total	.170	7			
	30	Between Groups	.064	2	.032	6.538	.081
		Within Groups	.015	3	.005		
		Total	.079	5			
ผู้	7	Between Groups	.500	2	.250	31.150	.004
		Within Groups	.032	4	.008		
		Total	.532	6			
	14	Between Groups	.980	2	.490	264.080	.000
		Within Groups	.007	4	.002		
		Total	.987	6			
	30	Between Groups	.198	2	.099	3.562	.109
		Within Groups	.139	5	.028		
		Total	.337	7			

Sig= significance

ตารางที่ ผก-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปัจจัยต่อระดับการแสดงออกของยีน tranaposase ในหอยเจดีย์วัยอ่อน

ระยะเวลารับสาร E_2 (วัน)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
7	Between Groups	.282	2	.033	9.392	.014
	Within Groups	.172	6	.003		
	Total	.454	8			
14	Between Groups	.147	2	.497	103.162	.000
	Within Groups	.023	6	.005		
	Total	.170	8			
30	Between Groups	.064	2	.530	15.047	.005
	Within Groups	.015	6	.035		
	Total	.079	8			

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

สารเคมี และวิธีการเตรียม

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. วิธีการเตรียมสารเคมี

1.1 20% DMSO

100% DMSO	2 ml
น้ำกลั่น	10 ml

1.2 สาร 17β-estradiol (stock solution 1 mg/ml)

17β-estradiol (E_2)	0.001 g
20% DMSO	1 ml

1.2 5X TBE buffer (เตรียมสารละลายปริมาตร 1,000 ml)

Tis-base	54 g
Boric acid	27.5 g
EDTA (disodium dehydrate MV=372.24 g/mol)	3.72 g

1.3 LB (Lauria-Bertani) broth (20 mg/l)

LB broth	4 g
น้ำกลั่น	200 ml

1.4 LB agar

LB broth	4 g
Bacto agar	3 g
น้ำกลั่น	200 ml

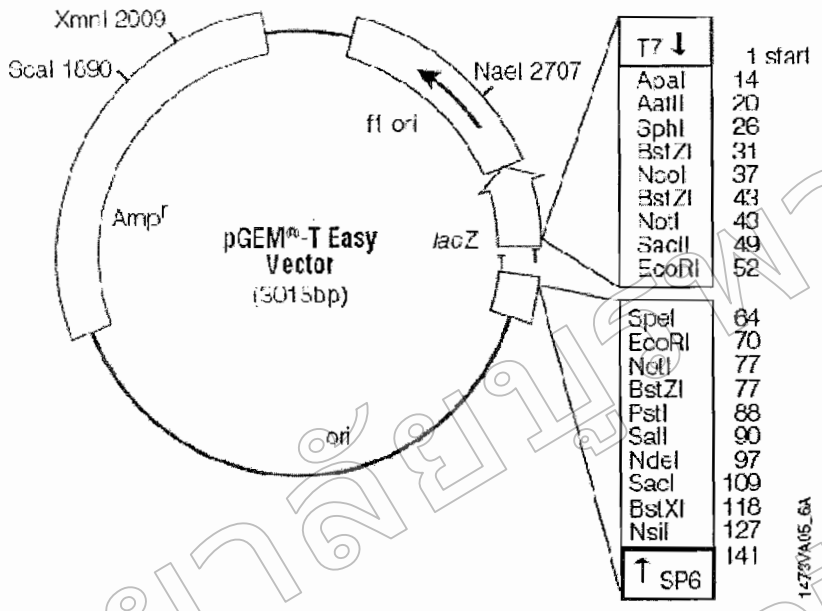
1.5 X-gal (40 mg/ml)

X-gal	0.04 g
Dimethyl formamide	1 ml

1.6 Ampicillin (200 mg/ml)

Ampicillin	0.02 g
น้ำกลั่น	1 ml

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



pGEM®-T Easy Vector sequence reference points:

T7 RNA polymerase transcription initiation site	1
multiple cloning region	10–128
SP6 RNA polymerase promoter (–17 to +3)	139–158
SP6 RNA polymerase transcription initiation site	141
pUC/M13 Reverse Sequencing Primer binding site	176–197
*lac*Z start codon	180
lac operator	200–216
β-lactamase coding region	1337–2197
phage f1 region	2380–2835
lac operon sequences	2836–2996, 166–395
pUC/M13 Forward Sequencing Primer binding site	2949–2972
T7 RNA polymerase promoter (–17 to +3)	2999–3

ภาพที่ ผ-ข Physical Map ของ pGEM®-T Easy Vector

(ที่มา: TechnicalManual, Promega)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University