



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## โครงการ

การวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนในกิ้งต๊กแตนหางจุด  
(*Harpiosquilla raphidea*) ด้วยเทคโนโลยี Next Generation Sequencing

Differential gene expression profiles study in  
*Harpiosquilla raphidea* by next generation sequencing technique

## ผู้วิจัย

รชนิมขุ หิรัญสัจจาเลิศ, ศรีภาพรรณ ธาระนารถ, พัชรี โยควิบูล,  
ณรงค์ศักดิ์ ฟ่วงลาภ และ นายสราวุธ วงษ์พยัคฆ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้  
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

รหัสโครงการ 2560A10802243

สัญญาเลขที่ 10/2560

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## โครงการ

การวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนในกิ้งก่าเตนหางจุด  
(*Harpiosquilla raphidea*) ด้วยเทคโนโลยี Next Generation Sequencing  
Differential gene expression profiles study in  
*Harpiosquilla raphidea* by next generation sequencing technique

## ผู้วิจัย

### หัวหน้าโครงการวิจัย

นางรชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา (60%)

### ผู้ร่วมโครงการวิจัย

นางศรีภาพรรณ ธาระนารถ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี (10%)

นางสาวพัชรี โยควิบูล ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (30%)

ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ที่ปรึกษา)

นายสรารุธ วงษ์พยัคฆ์ บริษัท วิซูโอ ไบโอมेटิคอล (ไทยแลนด์) จำกัด (ที่ปรึกษา)

## บทคัดย่อ

การศึกษาคั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในเลือดและรังไข่ของกั้ง ตั๊กแตนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) ด้วยเทคโนโลยีชีวสารสนเทศ และเทคนิคเอ็นจีเอส (Next Generation Sequencing) โดยเริ่มจากการสร้างข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากเครื่อง Illumina และทำการรวมนิวคลีโอไทด์สายสั้น (reads) เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีน (transcripts) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสในระดับทรานสคริปโตมโดยปราศจากจีโนมอ้างอิง ผ่านโปรแกรม Trinity ได้ทั้งหมด 93,344 เส้น ที่ถูกประเมินค่าการแสดงออกของแต่ละชุดลำดับนิวคลีโอไทด์ในเลือดของกั้งตั๊กแตนหางจุด ในสภาวะที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* โดยการฉีดเข้าตัวอย่างเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสภาวะปกติ โดยอยู่ในรูปของค่า FPKM (Fragments Per Kilobase of target transcript length per Million reads mapped) และเลือกชุดลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีค่าการแสดงออกที่แตกต่างกันได้ 214 เส้น และแบ่งลักษณะการแสดงออกได้เป็น 4 กลุ่มหลัก คือกลุ่มที่มีการแสดงออกลดลง (กลุ่มที่ 1/1 และ 2/1) และกลุ่มที่มีการแสดงออกสูงขึ้น (กลุ่มที่ 1/2 และ 2/2) เพื่อนำไประบุหน้าที่ในแต่ละกลุ่มโดยผ่านโปรแกรม Blast2go โดยพบยีนที่มีความเกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกันของกั้งตั๊กแตนหางจุดที่สำคัญดังนี้ histone H1-delta-like มีบทบาทเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และเชื่อม DNA ให้อยู่ระหว่าง nucleosomes กับ compact chromatin, cyclooxygenases เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยน arachidonic acid เป็นฮอร์โมน prostaglandins, 5-aminolevulinic acid erythroid-mitochondrial มีบทบาทในการสร้างฮีโมโกลบิน และ cytochrome, electron transfer flavo-ubiquinone mitochondrial มีบทบาทในกลไกการขนส่งอิเล็กตรอนไปสู่ ubiquinone pool และยีน CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1 มีบทบาทในการควบคุมระดับการแสดงออกของยีนโดยกระบวนการ ubiquitination และ deadenylation ส่วนในรังไข่ของกั้งตั๊กแตน พบยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนารังไข่ในครัสเตเชียน เช่น Vitellogenin, Estrogen related receptor, retinoid-X receptor 2, hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like, ecdysone receptor, nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like และ putative nuclear hormone receptor เป็นต้น จากการศึกษาในครั้งนี้ ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการพัฒนารังไข่ในกั้งตั๊กแตนหางจุด และทราบถึงแนวทางการศึกษาที่สำคัญเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันและการสร้างเซลล์ไข่ เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยง และอนุบาลกั้งตั๊กแตนหางจุดในเชิงพาณิชย์ได้

**คำสำคัญ :** กั้งตั๊กแตนหางจุด / เอ็นจีเอส / RNA-seq / การวิเคราะห์ลำดับเบสในระดับทรานสคริปโตมโดยปราศจากจีโนมอ้างอิง

## Abstract

This study aims to determine gene expression analysis in hemocyte and ovaries of *Harpiosquilla raphidea* by using bioinformatics technology and Next Generation Sequencing (NGS) technique. RNA-seq data was built by Illumina platform while the reads were assembled to the transcripts by using *De novo* transcriptome assembly in the Trinity software. The total 93,344 transcripts were estimated the expression of each transcript in the hemocyte of *H. raphidea* (both infected by *Vibrio parahaemolyticus* for 24 hours and normal condition) in terms of FPKM (Frackments Per Kilobase of target transcript length per Million reads mapped). The 214 differential expression of transcripts were classified into 4 clusters, i.e., down regulated expression levels (cluster 1/1 and 2/1) and up regulated expression levels (cluster 1/2 and 2/2). Clusters were further functional and annotation analyzed by using Blast2go software. The important genes that relevant in the immune system of *H. raphidea* were found this study. These included histone H1-delta-like (which played important roles in innate immune system as well as linked DNA to be in the middle of nucleosomes and compact chromatin), Cyclooxygenases (which played an important role in catalyst arachidonic acid into prostaglandins), 5-aminolevulinate erythroid-mitochondrial (which played important roles in produced heme and cytochrome), Electron transfer flavo-ubiquinone mitochondrial (which played an important role in the mechanism of electron transfer to ubiquinone pool) and CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1 gene (which played an important role in gene expression level regulations by ubiquitination and deadenylation process). In *H. raphidea* ovaries, the numbers of transcripts involving to ovarian development were found, i.e., Vitellogenin, Estrogen related receptor, retinoid-X receptor 2, hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like, ecdysone receptor, nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like and putative nuclear hormone receptor. The basic information in *H. raphidea* was investigated from this study which will be the guidance for further study about the importance process in the immune and female maturation systems of *H. raphidea*. These will be the useful information for commercial culture of *H. raphidea* in the future.

**Keyword:** *Harpiosquilla raphidea*/ NGS/ RNA-seq/ *de novo* TRANSCRIPTOME ASSEMBLY



## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกของยีนในกิ้งก่าเตนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) ด้วยเทคโนโลยี Next Generation Sequencing ได้ผลงานวิจัยที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อความเข้าใจด้านกลไกของร่างกายในการตอบสนองต่อเชื้อแบคทีเรียและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกิ้งก่าเตนหางจุด ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่กำลังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 10/2560

ขอขอบคุณ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ตลอดจนเจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องที่ได้อำนวยความสะดวก และให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ นักวิจัยในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล และ ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ที่ช่วยผลักดันและสนับสนุนการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ นายสรารุช วงษ์พยัคฆ์ บริษัท วิชูโอ ไบโอมेटิคอล (ไทยแลนด์) จำกัด ให้ความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดงานวิจัยครั้งนี้

มกราคม 2562

## สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญภาพ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย.....	จ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย .....	2
1.4 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง.....	3
2 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย .....	9
2.1 วัสดุและอุปกรณ์ .....	9
2.1.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง .....	9
2.1.2 อุปกรณ์สำหรับสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมด (total RNA) .....	9
2.2 สารเคมี .....	9
2.3 เครื่องมือในการทำ RNA-Seq และการวิเคราะห์ข้อมูล .....	10
2.4 สถานที่ทำการศึกษา.....	10
2.5 วิธีการดำเนินงาน .....	10
2.5.1 การเก็บตัวอย่างรังไข่ของกิ้งกักแทนหางจุด.....	10
2.5.2 การเก็บตัวอย่างเลือดของกิ้งกักแทนหางจุด.....	10
2.5.3 การสกัด RNA ทั้งหมด (Total RNA extraction).....	11
2.5.4 การวิเคราะห์ RNA ทั้งหมด.....	11
2.5.5 การสร้างข้อมูล RNA-Seq.....	12
2.5.6 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน.....	13
3 ผลการวิจัย .....	21
3.1 ระดับการแสดงออกของยีน .....	21
3.1.1 การกรองข้อมูล ตามค่าการแสดงออกของ transcripts (FPKM) .....	21
3.2 การระบุหน้าที่ของยีน (Functional annotation of genes).....	22
3.2.1 กลุ่มที่ 1/1 มีลักษณะการแสดงออกลดลง.....	22
3.2.2 กลุ่มที่ 1/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มขึ้น.....	47
3.2.3 กลุ่มที่ 2/1 มีลักษณะการแสดงออกลดลง.....	91

## สารบัญ (ต่อ)

3.2.4	กลุ่มที่ 2/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มขึ้น .....	134
3.3	การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์เต็มยีนในรังไข่กึ่งตักแดนทางจุด.....	170
3.3.1	ยีนไวเทลโลเจนิน.....	170
3.3.2	ยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน.....	189
3.3.3	ยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like.....	195
3.3.4	ยีน putative nuclear hormone receptor HR38.....	201
3.3.5	ยีน retinoid-X receptor 2.....	209
3.3.6	ยีน ecdysone receptor.....	215
3.3.7	ยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like.....	221
4	อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย .....	227
4.1	การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้เทคโนโลยี Next Generation Sequencing (NGS).....	227
4.2	รูปแบบการแสดงออกของ transcripts ในเลือดของกึ่งตักแดนทางจุด .....	229
4.3	รูปแบบการแสดงออกของ transcripts ในรังไข่ของกึ่งตักแดนทางจุด .....	237
4.3.1	การทำงานของโดเมน ZnF_C4 และโดเมน HOLI.....	241
4.3.2	การทำงานของโดเมน ZnF_C4.....	241
4.3.3	การทำงานของโดเมน HOLI.....	241
4.4	สรุปผลการวิจัย.....	242
5	ผลผลิต .....	245
5.1	ผลกระทบด้านต่างๆ.....	245
5.1.1	ผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์/พาณิชย์.....	245
5.1.2	ผลกระทบเชิงสังคม/ สิ่งแวดล้อม.....	245
5.1.3	ผลกระทบเชิงวิชาการ/ วิทยาศาสตร์.....	245
5.2	การนำเสนอผลงานและตีพิมพ์ผลงานในวารสาร .....	245
	บรรณานุกรม .....	247
	ประวัติผู้วิจัย .....	252
	รายงานสรุปการเงิน .....	253

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 1-1 ลักษณะภายนอกของกิ้งต๊กแตนหางจุด ( <i>Harpiosquilla raphidea</i> ).....	5
ภาพที่ 1-2 ส่วนหัวและลักษณะปล้องที่ 5-7 ของกิ้งต๊กแตนหางจุด ( <i>Harpiosquilla raphidea</i> ).....	5
ภาพที่ 1-3 แผนภาพแสดงการกระจายพันธุ์ของกิ้งต๊กแตนหางจุด ( <i>Harpiosquilla raphidea</i> ).....	6
ภาพที่ 2-1 แผนภาพแสดงแผนการทดลองและการเก็บตัวอย่างกิ้งต๊กแตนหางจุด.....	11
ภาพที่ 2-2 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน.....	14
ภาพที่ 2-3 Gene Ontology analysis workflow.....	15
ภาพที่ 2-4 load fasta file.....	15
ภาพที่ 2-5 การตั้งค่า sequences format.....	15
ภาพที่ 2-6 sequences ที่ถูกโหลดเข้ามาใน Blast2go.....	16
ภาพที่ 2-7 เลือก blast sequences.....	16
ภาพที่ 2-8 เลือกฐานข้อมูลสำหรับการ blast .....	16
ภาพที่ 2-9 การกำหนดค่าการ blast .....	17
ภาพที่ 2-10 การทำ InterPro scan เป็นการระบุโปรตีนจากฐานข้อมูลโปรตีนอื่นๆ โดยการกำหนดค่าเป็น default .....	17
ภาพที่ 2-11 การ save ผลการทำ InterPro scan .....	18
ภาพที่ 2-12 การ maps sequences เพื่อการดึงเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลอื่นๆไปสู่การทำ GO term โดยกำหนดค่าเป็น default .....	18
ภาพที่ 2-13 การกำหนดค่าการทำ Annotation กำหนดค่าเป็น default .....	19
ภาพที่ 2-14 กำหนดค่า Evidence code เป็น default .....	19
ภาพที่ 2-15 Sequences หลังจากการทำ Annotation .....	20
ภาพที่ 3-1 heatmap การจัดกลุ่มตามลักษณะการแสดงออกของ transcripts โดยมี hc0_a เป็นชุดควบคุม และ hc24_a เป็นชุดทดลอง .....	21
ภาพที่ 3-2 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 1/1 .....	45
ภาพที่ 3-3 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 1/1 .....	45
ภาพที่ 3-4 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 1/1 .....	46
ภาพที่ 3-5 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 1/2 .....	86
ภาพที่ 3-6 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 1/2 .....	86
ภาพที่ 3-7 องค์กรประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular function ในกลุ่มที่ 1/2 .....	87
ภาพที่ 3-8 Arachidonic acid metabolism pathway ในกลุ่มที่ 1/2 .....	89
ภาพที่ 3-9 Phenylpropanoid biosynthesis pathway ในกลุ่มที่ 1/2 .....	89

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 3-10 Thiamine metabolism pathway และ Purine metabolism ในกลุ่มที่ 1/2 ..... 90

ภาพที่ 3-11 Purine metabolism pathway ในกลุ่มที่ 1/2 ..... 90

ภาพที่ 3-12 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 2/1 ..... 130

ภาพที่ 3-13 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 2/1 ..... 130

ภาพที่ 3-14 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 2/1 ..... 131

ภาพที่ 3-15 Glycine, serine and threonine metabolism pathway ในกลุ่มที่ 2/1 ..... 132

ภาพที่ 3-16 Porphyrin and chlorophyll metabolism pathway ในกลุ่มที่ 2/1 ..... 133

ภาพที่ 3-17 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 2/2 ..... 168

ภาพที่ 3-18 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 2/2 ..... 168

ภาพที่ 3-19 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 2/2 ..... 169

ภาพที่ 3-20 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกิ้งกักเตนหางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ VWD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation ..... 171

ภาพที่ 3-21 การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกักเตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทากรอบสีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD ..... 176

ภาพที่ 3-22 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตไวเทลโลเจนินในสัตว์กลุ่มกิ้งกักเตน กุ้ง และปูที่มีการระบุในห้องสมุดยีน โดยใช้ *O.oratoria* (ALI16501.1), *P.trituberculatus* (AAX94762.1), *S.paramamosain* (ACO36035.1), *C.sapidus* (AFI59132.1), *F.chinensis* (ABC86571.1), *M. japonicus* (BAD98732.1), *P.carinicauda* (AFM82474.1), *M.rosenbergii* (BAB69831.1), *P.hypsintotus* (DAD11098.1), *P. japonica* (AHD26978.1), *P.monodon* (ABB89953.1) และ *D.rerio* (XP\_009294676.1) ..... 188

ภาพที่ 3-23 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ้งกักเตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4, สีฟ้าคือโดเมน HOLI และสีชมพูคือ Transcription termination signal ..... 191

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 3-24 การแสดงความคล้ายคลึงของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่งตึกแดนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน estrogen related receptor ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOLI .....	192
ภาพที่ 3-25 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับฮอร์โมน เอสโตรเจน ในกิ่งตึกแดนทางจุด ที่มีการระบุในท้องสมุดยีน โดยใช้ <i>S. paramamosain</i> (ADB43256.1), <i>P. trituberculatus</i> (AIS76179.1), <i>Z. nevadensis</i> (KDR06670.1), <i>P.corporis</i> (XP_002431237.1), <i>T. emma</i> (ACW84414.1), <i>S. mimosarum</i> (KFM71034.1), <i>D. ponderosae</i> (YQE) (ENN81341.1), <i>D. ponderosae</i> (D910) (ERL87717.1), <i>T. japonicus</i> (AID52852.1) และ <i>F. arisanus</i> (XP_011312293.1) .....	194
ภาพที่ 3-26 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในดับของกิ่งตึกแดนทางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4, สีฟ้าคือโดเมน HOLI และสีชมพูคือ Transcription termination signal .....	197
ภาพที่ 3-27 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ่งตึกแดนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOLI .....	198
ภาพที่ 3-28 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ่งตึกแดนทางจุดโดยใช้ <i>S. kowalevskii</i> (XP_002731047.1), <i>T. castaneum</i> 10 (XP_008196276.1), <i>T. castaneum</i> 3 (XP_008196269.1), <i>T. castaneum</i> 4 (EFA07427.1.1), <i>T. castaneum</i> 5 (XP_008196271.1), <i>L. Polyphemus</i> 1 (XP_013779786.1), <i>F. arisanus</i> (XP_011302608.1), <i>L. Polyphemus</i> 2 (XP_013791686.1), <i>C. gigas</i> (XP_011451246.1) และ <i>T. castaneum</i> 6 (XP_008196272.1). .....	200
ภาพที่ 3-29 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในของกิ่งตึกแดนทางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOLI .....	203

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 3-30 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน putative nuclear hormone receptor HR38 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และกรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน HOLI ..... 204

ภาพที่ 3-31 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดที่มีการระบุในท้องสมุดยีน โดยใช้ *Z. nevadensis* (KDR09534.1), *A. gambiae* str. PEST (XP\_317123.4), *P. humanuscorporis* (XP\_002428935.1), *A. aegypti* (AAF23095.1), *T. castaneum* (XP\_008194320.1), *M. domestica* (XP\_011292206.1), *D. ponderosae* (ERL89163.1), *A. aegypti* (XP\_001663431.1), *H. saltator* (EFN81833.1) และ *O. abietinus* (XP\_012285623.1) ..... 208

ภาพที่ 3-32 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon โดยสัญลักษณ์สี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่เหลี่ยมคือโดเมน HOLI ..... 211

ภาพที่ 3-33 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน retinoid-X receptor 2 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่เหลี่ยมคือโดเมน HOLI ..... 212

ภาพที่ 3-34 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ้งต๊กแตนหางจุด โดยใช้ *P. trituberculatus* (AHJ81363.1), *M. nipponense1* (AHA33388.1), *C. sapidus* (AET06182.1), *L. vnamei* (AGG55291.1), *M. nipponense2* (AHA33387.1), *S. paramamosain* (ALM98948.1), *F. chinensis* (ACN78602.1), *E. sinensis* (AHF65152.1), *H. americanus* (AGI15961.1) และ *C. sapidus2* (AGB34183.1) ..... 214

ภาพที่ 3-35 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon โดยสัญลักษณ์สี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4, สีเขียวคือโดเมน Pfam:Hormone\_recep ..... 217

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 3-36 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน ecdysone receptor ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 และสีเขียวคือโดเมน Pfam:Hormone_recep .....	218
ภาพที่ 3-37 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดโดยใช้ <i>M. rosenbergii1</i> (AKL71618.1), <i>M. rosenbergii2</i> (AKL71617.1), <i>U. pugilator</i> (AAC33432.2), <i>M. nipponense</i> (AHA33385.1), <i>C. sapidus</i> (AET06180.1), <i>U. pugilator3</i> (AIE88263.1), <i>P. trituberculatus</i> (AFH35032.1), <i>M. rosenbergii3</i> (AKL71619.1), <i>C. crangon</i> (ACO44667.1) และ <i>U. pugilator1</i> (AIE88261.1) .....	220
ภาพที่ 3-38 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน ของ nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 .....	221
ภาพที่ 3-39 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือโดเมน ZnF_C4 .....	223
ภาพที่ 3-40 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งต๊กแตนหางจุด โดยใช้ <i>L. Polyphemus</i> (XP_013774988.1), <i>L. anatine</i> (XP_013394781.1), <i>L. Polyphemus</i> (XP_013790693.1), <i>B. terrestris</i> (XP_012174781.1), <i>C. floridanus</i> (XP_011263764.1), <i>M. rotundata</i> (XP_012140861.1), <i>C. teleta</i> (ELT89160.1), <i>P. paniscus</i> (XP_014200330.1), <i>C. gigas</i> (XP_012542052.1) และ <i>L. anatine</i> (XP_013394783.1) .....	225
ภาพที่ 4-1 ALAS heme biosynthesis to aerobic respiration .....	232
ภาพที่ 4-2 กลไกการขนส่ง electron ใน short electron transfer pathway เริ่มการขนส่ง electron จาก Octanoyl-CoA ไปสู่ Ubiquinone โดยมีตัวกลางเป็น ETF และ ETF : QO (Watmough and Freman. 2010) .....	234



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 3-1 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/1 .....	23
ตารางที่ 3-2 หน้าที่ของยีนในกลุ่มที่ 1/1 .....	27
ตารางที่ 3-3 gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1.....	28
ตารางที่ 3-4 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/1.....	38
ตารางที่ 3-5 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1 .....	40
ตารางที่ 3-6 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/2 .....	48
ตารางที่ 3-7 หน้าที่ของยีนในกลุ่มที่ 1/2 .....	51
ตารางที่ 3-8 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2.....	54
ตารางที่ 3-9 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2.....	77
ตารางที่ 3-10 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/2.....	84
ตารางที่ 3-11 pathway ในกลุ่มที่ 1/2 .....	87
ตารางที่ 3-12 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1 .....	92
ตารางที่ 3-13 หน้าที่ของยีน ในกลุ่มที่ 2/1.....	107
ตารางที่ 3-14 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1.....	110
ตารางที่ 3-15 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1 .....	122
ตารางที่ 3-16 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/1 .....	127
ตารางที่ 3-17 pathway ในกลุ่มที่ 2/1 .....	131
ตารางที่ 3-18 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2.....	135
ตารางที่ 3-19 หน้าที่ของยีนในกลุ่มที่ 2/2 .....	141
ตารางที่ 3-20 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2.....	143
ตารางที่ 3-21 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/2 .....	159
ตารางที่ 3-22 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2.....	163
ตารางที่ 3-23 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี blastX .....	170
ตารางที่ 3-24 โดเมนที่พบบนยีนไวเทโลเจนินที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยเครื่อง Illumina.....	170
ตารางที่ 3-25 โดเมนที่พบบนยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ้งก่าเตนหางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของหลักการของเครื่อง Illumina.....	189
ตารางที่ 3-26การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ้งก่าเตนหางจุด.....	190

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 3-27 โดเมนที่พบบนยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในกิ้งต๊กแตนหางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina ..... 195

ตารางที่ 3-28 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในกิ้งต๊กแตนหางจุด ..... 196

ตารางที่ 3-29 โดเมนที่พบบนยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ้งต๊กแตนหางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina..... 201

ตารางที่ 3-30 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 ในกิ้งต๊กแตนหางจุด..... 202

ตารางที่ 3-31 โดเมนที่พบบนยีน retinoid-X receptor 2 ในกิ้งต๊กแตนหางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina..... 209

ตารางที่ 3-32 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน retinoid-X receptor 2 ในกิ้งต๊กแตนหางจุด..... 210

ตารางที่ 3-33โดเมนที่พบบนยีน ecdysone receptor ในกิ้งต๊กแตนหางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina ..... 125

ตารางที่ 3-34 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน ecdysone receptor ในกิ้งต๊กแตนหางจุด..... 216

ตารางที่ 3-35 โดเมนที่พบบนยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในกิ้งต๊กแตนหางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina..... 221

ตารางที่ 3-36 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในกิ้งต๊กแตนหางจุด ..... 222

ตารางที่ 3-37 สรุปลุ่มยีนตัวรับฮอร์โมน (Hormone receptor gene)..... 226

ตารางที่ 4-1 การเปรียบเทียบ Output ของเทคนิค NGS เทียบกับการหา Nucleotide ด้วยเทคนิคอื่น ๆ 228

ตารางที่ 4-2 หน้าที่ของ transcripts TR8251|c0\_g3\_i1, TR51934|c0\_g1\_i1 และ TR30957|c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO ..... 230

ตารางที่ 4-3 หน้าที่ของ transcript TR33858|c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO ..... 231

ตารางที่ 4-4 หน้าที่ของ transcripts TR31322|c0\_g1\_i1 และ TR31322|c0\_g2\_i1 จากฐานข้อมูล GO. 233

ตารางที่ 4-5 หน้าที่ของ transcript TR16718\_c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO..... 235

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 4-6 หน้าที่ของ transcript TR11263 c0_g2_i1 จากฐานข้อมูล GO.....	236
ตารางที่ 4-7 ผลโดเมนที่พบบนยีนไวเทิลโลเจนิในสิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียงกัน .....	239
ตารางที่ 4-8 สรุปจำนวน transcripts ภายหลังจากการดำเนินการในแต่ละขั้นตอน.....	242

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

qseqid	Query Seq-id (ID of your sequence)
sseqid	Subject Seq-id (ID of the database hit)
percent	Percentage of identical matches
length	Alignment length
mismatch	Number of mismatches
gapopen	Number of gap openings
qstart	Start of alignment in query
qend	End of alignment in query
sstart	Start of alignment in subject (database hit)
send	End of alignment in subject (database hit)
evaluate	Expectation value (E-value)
bitscore	Bit score
bp	base pair
°C	degree Celsius
DNA	deoxyribonucleic acid
EtBr	ethidium bromide
kDa	kilodalton
mg	milligram
ml	millilitre
mM	millimolar
ng	nanogram
OD	optical density
PCR	polymerase chain reaction
RNA	Ribonucleic acid
rpm	revolution per minute

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในสภาวะปัจจุบันมีความนิยมในการบริโภคกิ้งต๊กแทนเป็นอาหาร โดยกิ้งต๊กแทนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) นับเป็นกิ้งต๊กแทนเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้น (นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร และพิชญานันท์ รักษา, 2555) และผลผลิตที่ได้มาสู่ท้องตลาดนั้นไม่ได้มาจากการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้เกิดการจับในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นที่มีผลมาจากความต้องการในท้องตลาด และศักยภาพของเครื่องมือประมงที่มีเพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณกิ้งต๊กแทนหางจุดในธรรมชาตินั้นได้รับผลกระทบจากการทำประมงที่มีศักยภาพเกินกำลังการผลิตตามธรรมชาติทำให้เกิดความพยายามในการเพาะเลี้ยงกิ้งต๊กแทน โดยมีจุดประสงค์ในการเพาะเลี้ยงกิ้งต๊กแทนในเชิงพาณิชย์ เพื่อเพิ่มผลผลิตและอนุรักษ์ประชากรกิ้งต๊กแทนให้คงอยู่ (บังอร ศรีมุกดา และสรณัญช์ จำปาศรี, 2537) ซึ่งในปัจจุบันกิ้งต๊กแทนนั้นยังไม่ประสบความสำเร็จในการผลิตลูกพันธุ์ เนื่องจากการขาดความเข้าใจในชีววิทยาของกิ้งต๊กแทนในส่วนของ การต้านทานโรคและการสืบพันธุ์ ดังนั้นการทราบถึงลำดับของยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรค และการสืบพันธุ์ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การเข้าใจชีววิทยาของกิ้งต๊กแทนมีเพิ่มมากขึ้น

ในการศึกษาระดับการแสดงออกของยีนในอวัยวะของกิ้งต๊กแทนหางจุดนั้น ใช้เทคโนโลยี Next Generation Sequencing (NGS) เป็นเครื่องมือในการศึกษา โดยเทคโนโลยี NGS อาศัยการอ่าน DNA ต้นแบบแบบสุ่มทั้งจีโนม และตัดชิ้นส่วนของ DNA เป็นชิ้นสั้นๆ และนำไปเชื่อมต่อเข้ากับ adaptor ที่จำเพาะ ในช่วงของการสังเคราะห์ DNA นั้นๆทำให้สามารถเพิ่มจำนวน DNA ที่สังเคราะห์ได้พร้อมกันเป็นจำนวนมาก และได้ reads ความยาวสั้นๆจำนวนมากสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ เทคโนโลยี NGS นั้นยังทำให้สามารถทราบถึงลำดับเบสทั้งหมดได้โดยไม่ต้องทราบถึงลำดับเบสก่อน โดยอาศัย adaptor ที่จำเพาะต่อเอ็นไซม์ที่ปลายด้าน 3' ซึ่งทราบถึงชนิดของ adaptor ที่ใช้อยู่ก่อนแล้ว เทคโนโลยี NGS ในแต่ละรูปแบบนั้นมีความแตกต่างกันในรูปแบบของการตรึง DNA ต้นแบบให้อยู่กับที่ โดยขึ้นอยู่กับเครื่องมือที่ใช้ (อลิษา วิลันโท, 2555)

การใช้เทคโนโลยี NGS ในการศึกษาด้าน transcriptome ก่อให้เกิดประโยชน์ในการจำแนกหรือการค้นหาที่ยีนที่ไม่เคยทราบมาก่อน ซึ่งทำให้สามารถบ่งชี้ว่ายีนอยู่ตำแหน่งใดบนจีโนมได้ หนึ่งในเป้าหมายของการศึกษาด้าน transcriptome คือการศึกษาปริมาณระดับการแสดงออกของยีนในระดับ transcription ในช่วงของการพัฒนาหรือภายใต้สภาวะทางกายภาพหรือการก่อโรค โดยการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เทคนิค RNA-Sequencing (RNA-Seq) เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานของยีน และหน้าที่ของยีนเป็นหลัก เนื่องด้วยการศึกษายีนของกิ้งต๊กแทนหางจุดนั้นไม่มีจีโนมอ้างอิง (reference genome) ในฐานข้อมูล ดังนั้นรูปแบบในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยไม่มี reference genome สามารถวิเคราะห์ผลแบบ *de novo assembly* โดยใช้การประกอบเรียงกันของบริเวณชุดของเบสที่ซ้ำกันมากๆ (contig) ในแต่ละชุดของ reads ทั้งหมด เกิดการประกอบเรียงขึ้นของลำดับเบสในช่วงที่สั้นลง และใช้ส่วน contig แต่ละ contig เรียงขึ้นลำดับเบส ทำให้

ได้ scaffold ซึ่งมีขนาดใหญ่มากขึ้นทำให้การเรียงชั้นลำดับเบสในจีโนมนั้นมีคุณภาพสูงมากขึ้นทำให้ทราบถึง genome profiles ในส่วนของ mRNA ที่อาจครอบคลุมไปถึงบางส่วนของจีโนมเพื่อทำการวิเคราะห์การ แสดงออกของยีนได้ (อลิษา วิลันโท, 2555) การใช้เทคโนโลยี NGS ในการตรวจสอบโครงสร้างและหน้าที่ ของยีน โดยใช้ complementary DNA (cDNA) ที่ได้มาจาก RNA เป็นสารพันธุกรรมเริ่มต้นในการวิเคราะห์ ข้อมูลในการถอดรหัสพันธุกรรม หรือเรียกว่า RNA-Seq (กุลชญา เกตุสุวรรณ, 2557) ดังนั้นการศึกษาระดับ การแสดงออกของยีนในอวัยวะต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และระบบภูมิคุ้มกันของกิ้งก่าเตนหางจุด โดยใช้ข้อมูลของกิ้งก่าเตนหางจุด ซึ่งไม่มีข้อมูลจีโนมอ้างอิงใช้ในการศึกษาโดยอาศัยเครื่องมือทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics tools) ทำให้ทราบถึง transcriptome ใหม่ที่ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ซึ่งจะ สามารถทำให้ได้ข้อมูลยีนที่แสดงออกในอวัยวะสำคัญ ที่สามารถเพิ่มข้อมูลทางชีววิทยาของกิ้งก่าเตนหางจุด สำหรับแนวทางในการเพาะเลี้ยงกิ้งก่าเตนหางจุดในเชิงพาณิชย์ และในการอนุรักษ์ประชากรกิ้งก่าเตนหางจุด อื่นๆ ในธรรมชาติ **สอดคล้องกับยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 2 การสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจ**

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 วิเคราะห์ข้อมูลการแสดงออกของยีนในกิ้งก่าเตนหางจุด ด้วยเทคนิค Next Generation Sequencing (NGS)

1.2.2 ใช้เทคนิคทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ในการศึกษา profile transcriptomes ของกิ้งก่าเตนหางจุดโดยปราศจากข้อมูลจีโนมอ้างอิงในฐานะข้อมูล

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

วิเคราะห์การแสดงออกของยีนในเลือด และรังไข่ ของกิ้งก่าเตนหางจุดด้วยเทคนิค NGS โดยเปรียบเทียบตัวอย่าง RNA ที่ได้จากเลือดที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง กับตัวอย่าง RNA ที่ได้จากเลือดกิ้งก่าเตนหางจุดปกติ และจากตัวอย่าง RNA จากรังไข่ของกิ้งก่าเตนหางจุด (กลุ่มการทดลองละ 3 ซ้ำ) ด้วยเครื่อง Illumina โดยใช้หลักการ sequencing by synthesis จากนั้นนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์มาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิคทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) โดยใช้โปรแกรม Trinity ในการศึกษา profile transcriptomes ของกิ้งก่าเตนหางจุด (*Harpiesquilla raphidea*) โดยปราศจากข้อมูลจีโนมอ้างอิงในฐานะข้อมูล

#### 1.4 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

1. ลำดับทางอนุกรมวิธานและลักษณะทั่วไปของกิ้งกั้งเตตน (บพิธ จารุพันธ์ และ นันทพร จารุพันธ์, 2546)

ในปัจจุบันพบกิ้งกั้งเตตน (Mantis shrimp) ประมาณ 300 ชนิด ซึ่งจัดอยู่ใน Order Stomatopoda ซึ่งพบการกระจายพันธุ์อยู่ในทะเลเขตร้อนเป็นส่วนใหญ่ โดยจัดลำดับทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Subclass Malacostraca

Suborder Hoplocarida

Order Stomatopoda

Family Harpiosquillidae

Family Squillidae

Family Lysioiquillidae

Family Gonodactylidae

Family Bathysquillidae

กิ้งกั้งเตตนมีลักษณะเฉพาะที่ส่วนหัวจะถูกปกคลุมด้วยกระดอง (carapace) ที่สั้นและส่วนหน้าแคบกว่าส่วนท้าย โดยแอนเทนนาที่ 1 และก้านตาประกอบมีจุดกำเนิดจากปล้องที่แยกตัวออกจากส่วนอื่นๆของหัว เป็นปล้องเทียม (pseudosegment) จำนวน 2 ปล้อง และบริเวณเหนือปล้องเทียมมีโรสทริมที่เคลื่อนไหวได้ และเป็นจุดเชื่อมต่อกับกระดอง (carapace) กิ้งกั้งเตตนมี carapace ปกคลุมปล้องอก 4 ปล้องและยึดติดกันใน 3 ปล้องแรก ขอบส่วนหน้าของหัวมีลักษณะเว้าทำให้มุมด้านข้างของกระดอง (anterolateral) ทั้งสองข้างแหลม ที่ผิวด้านบนของ carapace มีสันตามยาว (carina) โดยด้านหน้าสุดของ carapace จะมีแผ่นกรี (rostrum plate) รูปร่างสี่เหลี่ยมหรือสามเหลี่ยมที่สามารถเคลื่อนไหวได้ ตาของกิ้งกั้งเตตนเป็นตาประกอบซึ่งเคลื่อนไหวได้ตามการเคลื่อนที่ของก้านตา ตาของกิ้งกั้งเตตนประกอบไปด้วยกลุ่มของอมาทิเดียม ซึ่งทำหน้าที่แยกแยะรูปร่างของเหยื่อและกำหนดระยะห่าง

กิ้งกั้งเตตนมีรยางค์อก 5 คู่แรกแบบยูนิรามัส เป็นซัคเคิลต (มีก้าม 1 อัน) โดยในคู่ที่ 2 มีขนาดใหญ่กว่าคู่อื่นๆใช้สำหรับจับเหยื่อ (raptorial claw) ในส่วนของโพรโปดัส (propodus) ของ raptorial claw มีลักษณะเป็นร่องซึ่งจะสวมเข้ากับแดคทิล (Dactyl) ในลักษณะเดียวกันกับมีดพับ รยางค์อกคู่ที่ 1 ใช้สำหรับทำ

ความสะอาดส่วนต่างๆ ส่วนรยางค์อกคู่ที่ 3-5 ใช้ในการฉีกและจับอาหาร โดยมักเรียกรยางค์ทั้ง 5 คู่นี้ว่าแมกซิลิเพส (maxilliped) และรยางค์อก 3 คู่ท้ายเป็นรยางค์ขาเดินแบบไปรามัส

ส่วนท้องของกั้งตั๊กแตนมีทั้งหมด 6 ปล้อง ผิวด้านบนโค้งนูนและมีสันต่อไปนี้ทอดยาวไปในทุกปล้อง median carinae สันตรงกลาง 1 สัน submedian carinae ขนาบข้าง median carinae ด้านละ 1 สัน intermedian carinae เป็นสันถัดจาก submedian carinae ด้านละ 1 สัน leteral carinae เป็นสันถัดจาก intermedian carinae ด้านละ 1 สัน marginal carinae เป็นสันด้านนอกสุดของลำตัวทั้งสองด้าน ด้านละ 1 สัน ซึ่งในส่วนท้องมีรยางค์ว่ายน้ำ (pleopod) ทั้งหมด 5 คู่ อยู่ในส่วนท้องของปล้องที่ 1-5

ส่วนหาง (telson) ของกั้งตั๊กแตนจะต่อกับปล้องที่ 6 ของส่วนท้อง ในด้านบนมี median carina ส่วนหางของกั้งตั๊กแตนประกอบด้วย แฉกแหลมที่ขอบด้านข้างของส่วนหาง (teeth) รอยหยัก (denticles) บริเวณขอบหางจะอยู่ระหว่าง teeth และส่วนของแพนหาง (uropod) จำนวน 1 คู่ ขนาบด้านข้างและทอดยาวจากส่วนท้องของปล้องที่ 6

## 2. กั้งตั๊กแตนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) (นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร, 2550)

กั้งตั๊กแตนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) เป็นกั้งตั๊กแตนที่มีขนาดใหญ่ แผ่นกริมมีความยาวมากกว่าความกว้าง ในส่วนหัวเรียวยาว dactylus ของก้ามเกี่ยวมีฟัน 8 ซี่ ส่วนอกปล้องที่ 5 มีลักษณะแหลมที่ด้านข้างทั้ง 2 ด้าน ในอกปล้องที่ 6-8 มี submedian carinae และ intermedian carinae ใน intermedian carinae มีปลายเป็นหนาม ส่วนสันด้านล่างของปล้องที่ 8 มีลักษณะมด

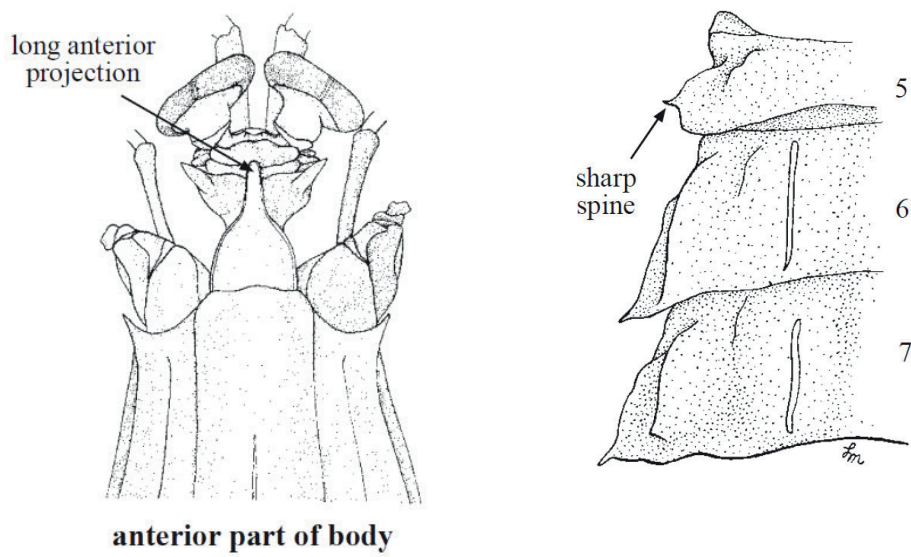
แพนหางมีจุดสีดำกระจายตัวหนาแน่นประมาณครึ่งหนึ่งของแพนหาง ที่ตำแหน่งแพนหางคู่บนสุด ขอบด้านนอกของปล้องโคน มีหนามที่เคลื่อนไหวได้จำนวน 8 อัน และบริเวณข้อต่อระหว่างปล้องฐานและปล้องโคนมีหนาม 1 อัน

ลำตัวมีสีเขียวคล้ำ มีเม็ดสีดำกระจายบริเวณก้านหนวดคู่ที่ 1 และ 2 แผ่นกริมมีสีใส บริเวณสันของกระดองมีสีเขียวเข้ม บริเวณเส้นขอบของปล้องทุกปล้องมีเส้นขอบสีดำ ขาเดินมีสีเหลือง บริเวณส่วนของ median carina ของหางมีจุดกลมใหญ่สีน้ำตาลหรือสีเขียวเข้ม 1 จุด

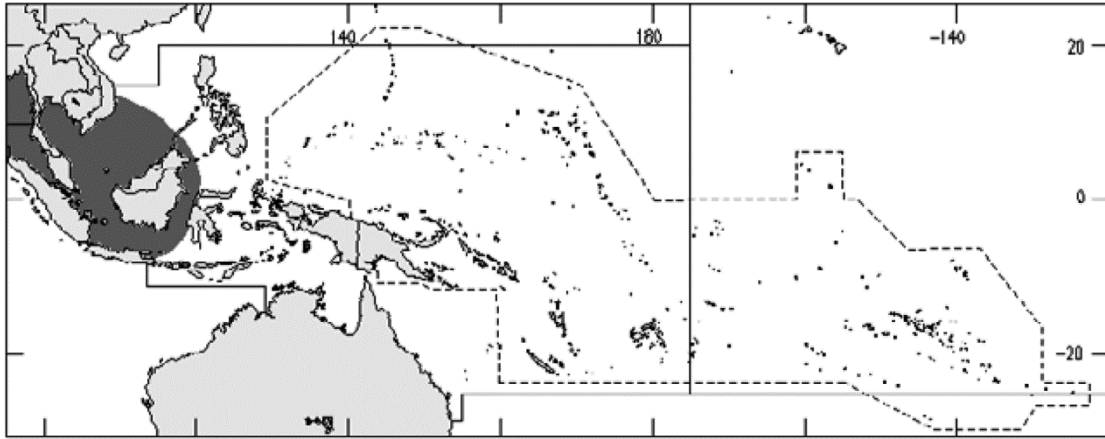




ภาพที่ 1-1 ลักษณะภายนอกของกั้งตึกแตนหางจุด (*Harpisosquilla raphidea*)



ภาพที่ 1-2 ส่วนหัวและลักษณะปล้องที่ 5-7 ของกั้งตึกแตนหางจุด (*Harpisosquilla raphidea*)



ภาพที่ 1-3 แผนภาพแสดงการกระจายพันธุ์ของกั้งตึกแดนทางจุด (*Harpiosquilla raphidea*)

### 3. เทคโนโลยี Next Generation Sequencing (NGS)

เทคโนโลยี NGS อาศัยการอ่าน DNA ต้นแบบแบบสุ่มทั้งจีโนม และตัดชิ้นส่วนของ DNA เป็นชิ้นสั้นๆ และนำไปเชื่อมต่อเข้ากับ adapter ที่จำเพาะในช่วงของการสังเคราะห์ DNA นั้นๆ ทำให้สามารถเพิ่มจำนวน DNA ที่สังเคราะห์ได้พร้อมกันเป็นจำนวนมาก และได้ reads ความยาวสั้นๆ จำนวนมากสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ เทคโนโลยี NGS นั้นยังสามารถทราบถึงลำดับเบสทั้งหมดได้โดยไม่ต้องทราบถึงลำดับเบสก่อน โดยใช้ adapter ที่จำเพาะต่อเอ็นไซม์ที่ปลายด้าน 3' ซึ่งทราบถึงชนิดของ adapter ที่ใช้อยู่ก่อนแล้ว เทคโนโลยี NGS ในแต่ละรูปแบบนั้นมีความแตกต่างกันในรูปแบบของการตรึง DNA ต้นแบบให้อยู่กับที่ซึ่งขึ้นอยู่กับเครื่องมือที่ใช้ โดยรูปแบบเครื่องมือที่นิยมใช้ได้แก่ 454/Roche, Illumina และ SOLiD/Life Technology (ABI) (Martin and Wang, 2011; อลิษา วิลันโท, 2555) ดังนั้นการใช้เทคโนโลยี NGS ในการตรวจสอบโครงสร้างและหน้าที่ของยีน โดยใช้ complementary DNA (cDNA) ที่ได้มาจาก RNA เป็นสารพันธุกรรม เริ่มต้นในการวิเคราะห์ข้อมูลในการถอดรหัสพันธุกรรม หรือเรียกว่า RNA-Seq (กุลชญา เกศสุวรรณ, 2557) ดังนั้นรูปแบบในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยไม่มี reference genome สามารถวิเคราะห์ผลแบบ *de novo* assembly โดยใช้การประกอบเรียงกันของบริเวณชุดของเบสที่ซ้ำกันมากๆ (contig) ในแต่ละชุดของ reads ทั้งหมด เกิดการประกอบเรียงขึ้นของลำดับเบสในช่วงที่สั้นลง และใช้ส่วน contig แต่ละ contig เรียงขึ้นลำดับเบส ทำให้ได้ scaffold ซึ่งมีขนาดใหญ่มากขึ้นทำให้การเรียงขึ้นลำดับเบสในจีโนมนั้นมีคุณภาพสูงมากขึ้นทำให้ทราบถึง genome profiles ในส่วนของ mRNA ที่อาจครอบคลุมไปถึงบางส่วนของจีโนมเพื่อทำการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนได้ (อลิษา วิลันโท, 2555)

#### 3.1 การสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้เครื่อง Illumina

การหาลำดับเบสโดยเครื่อง Illumina ทำได้โดยใช้หลักการ sequencing by synthesis โดยแยกสาย DNA ในแต่ละกลุ่มเป็น DNA สายเดี่ยว ใช้ primers สำหรับหาลำดับเบสจับกับ DNA ที่จำเพาะนั้นๆ

ในช่วงเริ่มต้นของการหาลำดับเบส โดยมีการเติมเอ็นไซม์ DNA polymerase และนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 เบส ที่ติดด้วยสารเรืองแสงที่มีสีแตกต่างกัน และใช้ reversible terminator ด้วยการ block ปลายด้าน 3' OH ไว้เพื่อหยุดการสังเคราะห์สาย DNA ของเอ็นไซม์ DNA polymerase เมื่อหยุดการสังเคราะห์สาย DNA นิวคลีโอไทด์ที่ไม่ได้เข้าคู่กับสาย DNA ตั้งต้นที่เหลือในปฏิกิริยาจะถูกล้างออก หลังจากการกระตุ้นด้วยแสง จะมีการบันทึกภาพการปลดปล่อยสารเรืองแสงของนิวคลีโอไทด์จากแต่ละกลุ่มบนกระจกสไลด์ที่ได้ เพื่อบันทึกความเหมือนกันของเบสแรกสำหรับกลุ่มนั้นๆ ตามด้วยขั้นตอนการตัด (cleavage) เพื่อกำจัด terminator และ fluorescent dye ออก จากนั้นเติมนิวคลีโอไทด์ชุดใหม่ และเอ็นไซม์ DNA polymerase เพื่อสังเคราะห์สาย DNA ต่อ โดยการทำซ้ำต่อไปเรื่อยๆ ซึ่งในแต่ละรอบจะเป็นตัวกำหนดลำดับเบสที่อ่านได้ในแต่ละครั้ง (กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ และคณะ, 2558)

### 3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์โดย Trinity

Trinity คือโปรแกรมคอมพิวเตอร์ประยุกต์ ซึ่งประกอบไปด้วยสามองค์ประกอบหลักในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ Inchworm, Chrysalis และ Butterfly ซึ่งทำการจัดเรียง RNA-Seq reads เป็น contig และนำ contig ที่ได้ไปสร้าง *de Bruijn* graphs ที่จัดเรียงแต่ละกลุ่มของ contig เข้าไว้ด้วยกันและประมวลผลกราฟในแต่ละช่วง เพื่อสร้าง full-length transcripts ที่ใช้ในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนต่อไปซึ่งทำให้สามารถทราบถึง paralogous genes (Garcia-Seco et al., 2015)

- **Inchworm** สร้าง contig โดยการกำหนดค่าคงตัวของจำนวนเบสที่ซ้ำกันในแต่ละ reads (k-mer) และรวมส่วนที่มีการซ้ำกันของลำดับเบสในแต่ละ reads เข้าไว้ด้วยกันเป็น contig

- **Chrysalis** ทำการจัดกลุ่มของ contig ที่มีความคล้ายคลึงกัน โดย cluster ที่อยู่ใกล้เคียงกัน จะมีที่มาจากกาเกิด alternative spliced transcripts หรือมาจากกลุ่มยีนกลุ่มเดียวกัน และนำไปเรียงลำดับเป็น *de Bruijn* graph

- **Butterfly** ประมวลผล *de Bruijn* graph แต่ละกราฟโดยใช้หน่วยประมวลผลแบบคู่ขนาน ที่ทำการประมวลผลตลอดความยาวกราฟ และรวมแต่ละ cluster เข้าด้วยกันเพื่อนำไปสร้างเป็น full-length transcripts ที่มีลักษณะเดียวกันกับ cDNA ต้นแบบที่เกิด alternative spliced transcripts และสามารถใช้อธิบายถึง paralogous genes ได้

### 3.3 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

วิเคราะห์ข้อมูล Transcripts ที่ได้โดยใช้โปรแกรมประยุกต์ทางชีวสารสนเทศ และโปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีน

Grabherr, et al. (2011) สร้าง full-length transcriptome โดยปราศจากจีโนม จากข้อมูล RNA-Seq ซึ่งทำการจัดเรียง reads เพื่อใช้เป็นจีโนมอ้างอิงในฐานข้อมูลที่ยังขาดอยู่หรือไม่สมบูรณ์ โดยใช้ซอฟต์แวร์ Trinity ที่ใช้สำหรับกาสร้าง *de novo* full-length transcriptome ในยีส หนู และแมลงหวี่ขาว

ซึ่งจากการศึกษานี้ trinity มีประสิทธิภาพในการสร้าง full-length transcriptome ได้ดีกว่าซอฟต์แวร์ *de novo* transcriptome assembly ตัวอื่นๆที่มีอยู่ ซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มข้อมูลจีโนมอ้างอิงในฐานะข้อมูลอย่างสมบูรณ์

Hass et al. (2013) สร้างข้อมูล *de novo* transcript sequence จากข้อมูล RNA-Seq และวิเคราะห์ผลด้วย Trinity การศึกษาด้าน transcriptome โดยปราศจากจีโนมอ้างอิงในฐานะข้อมูล โดยทำการอธิบายถึงหลักการวิเคราะห์ข้อมูลบน Trinity platform ในการทำ *de novo* transcriptome assembly จากข้อมูล RNA-Seq โดยไม่มีสิ่งมีชีวิตต้นแบบ และการวิเคราะห์ผลโดยใช้ R/Bioconductor packages ในการระบุและเปรียบเทียบการแสดงออกของ transcripts ระหว่างตัวอย่างซึ่งทำให้สามารถเข้าถึงข้อมูลทางชีววิทยาที่ยังขาดหายอยู่ได้เพิ่มมากขึ้น

กุลชญา เกศสุวรรณ (2557) วิเคราะห์ข้อมูลการถอดรหัส ที่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันในช่อดอก จากจีโนมข้าวพันธุ์ผสม และพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้เทคนิค Next Generation Sequencing (NGS) SOLiD System Sequencing Platform และนำผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละสายพันธุ์ไปเทียบกับข้าวพัธุ์อ้างอิง และทดสอบระดับการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันระหว่างข้าวแต่ละสายพันธุ์ ทำให้ได้ซึ่งข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ผสมที่ต้องคงไว้ซึ่งลักษณะเด่นจากพ่อแม่พันธุ์เพื่อการได้มาซึ่งศักยภาพในการให้ผลผลิตที่สูง

Garcia-Seco et al. (2015) วิเคราะห์ข้อมูล RNA-Seq และ ข้อมูลtranscriptome ในแบคทีเรีย โดยการทำ *de novo* transcriptome assembly บนพื้นฐาน Illumina Hiseq 2000 platform จากผลการทำ *de novo* ข้อมูล RNA-Seq ของผลแบคทีเรียสุก ได้ผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดประมาณ 9 พันล้านนิวคลีโอไทด์ ซึ่งจะถูกรวมได้เป็น 42,062 sequences และทำการระบุหน้าที่ของยีนจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลที่แตกต่างกันทำให้ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ใหม่เพิ่มขึ้นสำหรับการใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยด้านชีววิทยา

## บทที่ 2

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

#### 2.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 2.1.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บรักษาตัวอย่าง

- หลอดทดลอง
- ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
- ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส และ -80 องศาเซลเซียส
- พาราฟิล์ม (Para film)

##### 2.1.2 อุปกรณ์สำหรับสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมด (total RNA)

- ถุงมือ
- แห้งแก้วบด
- กระจกชั่งน้ำหนัก
- อุปกรณ์ผ่าตัด
- ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) พร้อมไมโครปิเปตต์ทิป (Micropipette tip)
- หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (Microcentrifuge tube) 1.5 mL และ 0.2 mL
- เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR Thermocycler)
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
- เครื่องผสมสาร (Vortex mixture) (Fine Vortex Finepcr, Korea)
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) (Elite, Taiwan)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius, Germany)
- เครื่องปั่นตกตะกอน (Centrifuge)
- เครื่องไมโครเวฟ
- ขวดน้ำกลั่น
- ขวดรูปชมพู่ (Flash) 250 mL
- ตู้ปฏิบัติการพีซีอาร์ (PCR Cabinet) (Dwyer, USA)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แห้งแก้วสามเหลี่ยม
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

#### 2.2 สารเคมี

- RNA later (Ambian, USA)
- Tri reagent
- Chloroform (ACLabscan, Thailand)
- Isopropanol
- 75% Ethanol

- 100% Ethanol
- น้ำ Diethylpyrocarbonate (DEPC)

## 2.3 เครื่องมือในการทำ RNA-Seq และการวิเคราะห์ข้อมูล

Illumina MiSeq System และ คอมพิวเตอร์ Dell N5368-W56635007TH (windows 10)

## 2.4 สถานที่ทำการศึกษา

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล (Marine biotechnology laboratory) ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

## 2.5 วิธีการดำเนินงาน

### 2.5.1 การเก็บตัวอย่างรังไข่ของกั้งตักแทนหางจุด

นำกั้งตักแทนหางจุดมีชีวิตที่ได้จากท่าเรือ ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาว ดูเพศและระยะการพัฒนาของรังไข่ของกั้งตักแทน นำไปพักในถังเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ทำการผ่าเพื่อเก็บรังไข่ และนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหาข้อมูลดัชนีความสมบูรณ์เพศ เก็บตัวอย่างรังไข่ของกั้งตักแทนแบ่งเป็น 2 ระยะ (ระยะต้น และระยะสุดท้าย) ระยะละ 3 ตัว หลังจากนั้นแบ่งเก็บตัวอย่างเป็นตัวอย่างละสองส่วน ส่วนแรกนำใส่หลอดไมโครเซ็นติพีวส์ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี RNA later ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ส่วนที่สอง เก็บใส่หลอดไมโครเซ็นติพีวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

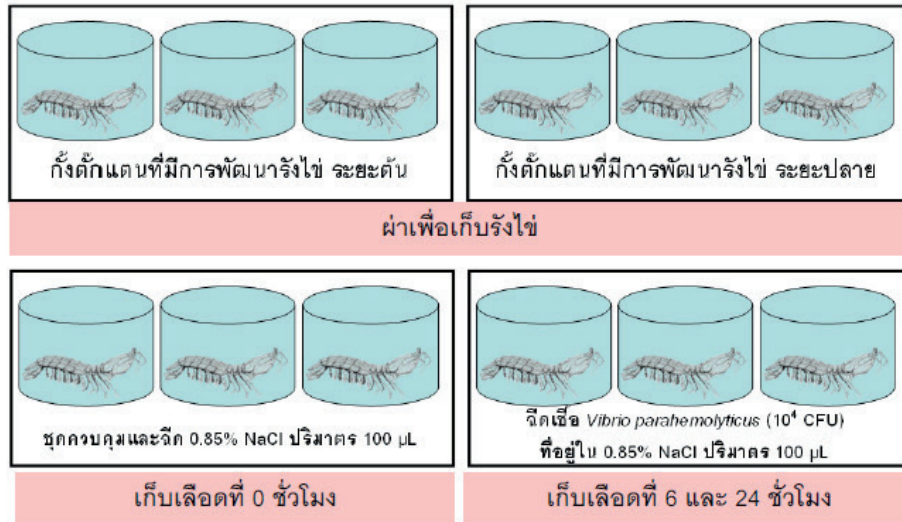
### 2.5.2 การเก็บตัวอย่างเลือดของกั้งตักแทนหางจุด

นำกั้งตักแทนหางจุดมีชีวิตที่ได้จากท่าเรือ ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาว นำไปพักในถังเลี้ยงก่อนการทดลองเป็นเวลา 3 วัน เต็มอากาศตลอดเวลา ใช้อาหารกุ้งขนาดเม็ดใหญ่เป็นอาหาร ใช้กั้งตักแทนทั้งหมด 6 ตัว แบ่งเป็น

1. กั้งตักแทนชุดควบคุมที่ฉีด normal saline (0.85% NaCl) ปริมาตร 100  $\mu$ L 3 ตัว ทำการเก็บเลือดกั้งตักแทนทุกตัวที่ 0 ชั่วโมง

2. กั้งตักแทนที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* จำนวน 3 ตัว โดยทำการฉีดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่มีความเข้มข้น  $10^4$  CFU ที่อยู่ใน normal saline (0.85% NaCl) ปริมาตร 100  $\mu$ L (ทำให้เชื้อตายโดยการพาสเจอร์ไรส์ที่ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที) ทำการเก็บเลือดกั้งตักแทนทุกตัวที่ 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง

หลังจากนั้นแบ่งเก็บตัวอย่างเป็นตัวอย่างละสองส่วน ส่วนแรกนำใส่หลอดไมโครเซ็นติพีวส์ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี RNA later ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ส่วนที่สอง เก็บใส่หลอดไมโครเซ็นติพีวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2-1 แผนภาพแสดงแผนการทดลองและการเก็บตัวอย่างกุ้งตั๊กแตนหางจุด

### 2.5.3 การสกัด RNA ทั้งหมด (Total RNA extraction)

นำเลือด รังไข่ และตับ/ตับอ่อน ที่เก็บไว้ใน RNA later และที่ไม่ได้เก็บใน RNA later อย่างละ 0.5 กรัม แยกบดใน Tri reagent ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Tri reagent เพิ่มอีก 800 ไมโครลิตร จากนั้นดูดเนื้อเยื่อที่บดแล้วแบ่งใส่หลอดไมโครเซ็นติพิวส์หลอดใหม่ หลอดละ 500 ไมโครลิตร เติม Tri reagent เพิ่มลงในแต่ละหลอด รวมถึงหลอดเริ่มต้นด้วย จนครบ 1000 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Chloroform ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เพื่อแยก RNA ออกจาก DNA และโปรตีน นำไปเขย่าด้วยเครื่องผสมสาร (Vortex) 15 นาที ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที ดูดส่วนใสลงในหลอดไมโครเซ็นติพิวส์หลอดใหม่ แล้วเติม Isopropanol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรเพื่อตกตะกอน RNA พลิกหลอดไมโครเซ็นติพิวส์เบาๆที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นตกตะกอน (Centrifuge) ที่ 12,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างตะกอน RNA โดยการเติม Ethanol 75% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ดีดตะกอนให้หลุดจากข้างหลอด) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นตกตะกอน ที่ 12,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วคว่ำหลอดไมโครเซ็นติพิวส์บนกระดาษทิชชูเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้ตะกอนแห้ง และเก็บตะกอน RNA โดยการเติม Ethanol บริสุทธิ์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วดีดข้างหลอดเพื่อให้ตะกอน RNA หลุดจากข้างหลอดและเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

### 2.5.4 การวิเคราะห์ RNA ทั้งหมด

เจือจาง RNA ทั้งหมดด้วยน้ำ DEPC ในอัตราส่วน 1:99 เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (OD 260) และ 280 นาโนเมตร (OD 280) เพื่อหาความเข้มข้นและคุณภาพของ RNA ทั้งหมด คำนวณได้จากสมการที่ 1 และสมการที่ 2 โดย RNA ที่มีคุณภาพ

ควรมีค่าเท่ากับ 2 (Sambrook and Russel, 2001) ตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยละลายอะกาโรสในไมโครเวฟ เป็นเวลาประมาณ 2 นาที จนอะกาโรสละลายทั้งหมดตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส จึงเทลง ภาตพลาสติกที่มีหวี (comb) ติดตั้งอยู่ รอให้เจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องใช้เวลาประมาณ 30 นาที เมื่อถอดหวี ออกจะทำให้เกิดช่องว่างสำหรับใส่ตัวอย่าง วางแผ่นเจลใน chamber และเติม electrophoresis buffer (1x TEA buffer) ให้ท่วมแผ่นเจล (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศในช่องใส่ตัวอย่าง) จากนั้นผสมตัวอย่างกับ loading dye และนำนาโนบริสุทธิ์ (Nano pure) ในอัตราส่วน 1:2:5 แล้วทำการเติมสารผสมลงในช่องสำหรับใส่สาร ตัวอย่าง (well) โดยใช้ DNA standard marker เป็นตัวเปรียบเทียบขนาด จ่ายกระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ คงที่ 100 โวลต์เป็นเวลา 20 นาที นำแผ่นเจลอะกาโรสไปย้อมต่อด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ 1-3 นาที ล้างเอธิเดียม โบรไมด์ออกด้วยน้ำประปาประมาณ 20-30 นาที ดูผลการทดลองภายใต้แสง UV โดยใช้เครื่อง Gel documentation และบันทึกผลด้วยการถ่ายภาพ

ความเข้มข้นของ RNA (ng/ $\mu$ L) = Dilution factor  $\times$  OD 260  $\times$  40 .....1

คุณภาพของ RNA = (OD 260 / OD 280).....2

## 2.5.5 การสร้างข้อมูล RNA-Seq

(Professor Dr. Hidehiro Kondo and Professor Dr. Ikuo Hirono, Laboratory of Genome Science Tokyo University of Marine Science and Technology, Japan)

การสร้างข้อมูล RNA-Seq ทำโดยเครื่อง Illumina ซึ่งทำการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ตามหลักการ sequencing by synthesis ทำให้สามารถอ่านความยาว read ได้ถึง 150 คู่เบส โดยในการหา ลำดับเบส 1 ครั้งจะได้จำนวนเบส ประมาณ 10 ล้าน reads หรือประมาณ 1.5 กิกะเบส ซึ่งมีความถูกต้องของ เบสที่ได้ (Q30) มีมากกว่าร้อยละ 99.5

การเตรียม cDNA ต้นแบบโดยการตัด cDNA ด้วย nebulizer โดยอาศัยเทคนิค nebulization ซึ่งใช้ cDNA ปริมาณ 0.5 ถึง 5 มิลลิกรัม โดยจะเกิดการควบคุมขนาดของ cDNA ด้วยการเปลี่ยนแปลงความดันของ ก๊าซภายใน nebulizer รวมถึงปัจจัยอื่นๆที่มีผลด้วย เช่น ความหนืดของสารละลาย อุณหภูมิของสารละลาย ซึ่งมีผลต่อขนาดของสาย cDNA (Sambrook and Russell, 2006) การตัดสาย cDNA จะทำให้ได้สาย cDNA ที่มีขนาดน้อยกว่า 800 คู่เบส หลังจากนั้นส่วนปลายที่ถูกตัดจะถูกต่อเข้าด้วยเอ็นไซม์ D4 DNA polymerase, Klenow enzyme และ T4 poly nucleotide kinase (Son and Taylor, 2011) และเติมนิวคลีโอไทด์เบส A ที่ปลาย 3' ของสาย cDNA นั้นๆ เพื่อให้สามารถเชื่อมต่อกับ adapter ได้ดีขึ้น ซึ่ง adapter มีขนาด 66 คู่ เบส และติดเบส T ที่ปลายทั้งสองด้าน หลังจากนั้นคัดแยกสาย DNA ที่มีขนาด 150 ถึง 200 คู่เบสบนเจล และเพิ่มปริมาณสาย cDNA โดยเทคนิค PCR

การสร้างกลุ่มของสาย cDNA โดยวิธี bridge amplification นำสาย cDNA ที่ได้จากขั้นตอนการตัด ใช้ cDNA สายเดี่ยวใส่ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ (flow cell channels) แบบสุ่ม โดยที่ผิวของแผ่นกระจกสไลด์ ถูกฉาบด้วย adapter และ adapter ที่เป็นคู่สมกัน (complementary adapter) ซึ่งทำหน้าที่เช่นเดียวกับ primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ cDNA ด้วยเทคนิค PCR จากนั้นเติมนิวคลีโอไทด์และเอ็นไซม์ เพื่อเริ่มการเพิ่ม



ปริมาณแบบสะพาน (bridge amplification) จาก cDNA สายเดี่ยว 1 โมเลกุล จับกับ primer เป็นรูปสะพานโค้ง (double-stranded bridges) ในขั้นตอนการแยกสาย cDNA จะได้ cDNA สายเดี่ยว เพื่อใช้เป็น cDNA ต้นแบบอีกครั้ง หลังจากเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR จะได้กลุ่มของสาย cDNA มากกว่า 50 ล้านกลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มประกอบด้วย cDNA ประมาณ 1,000 ชุดในแต่ละช่อง

การหาลำดับเบสโดยเครื่อง Illumina ทำได้โดยใช้หลักการ sequencing by synthesis โดยแยกสาย cDNA ในแต่ละกลุ่มเป็น cDNA สายเดี่ยว ใช้ primers สำหรับหาลำดับเบสจับกับ cDNA ที่จำเพาะนั้นๆ ในช่วงเริ่มต้นของการหาลำดับเบสจะมีการเติมเอ็นไซม์ DNA polymerase และนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 เบส ที่ติดด้วยสารเรืองแสงที่มีสีแตกต่างกัน และใช้ reversible terminator ด้วยการ block ปลายด้าน 3' OH ไว้เพื่อหยุดการสังเคราะห์สาย cDNA ของเอ็นไซม์ DNA polymerase เมื่อหยุดการสังเคราะห์สาย cDNA นิวคลีโอไทด์ที่ไม่ได้เข้าคู่กับสาย cDNA ตั้งต้นที่เหลือในปฏิกิริยาจะถูกล้างออก หลังจากการกระตุ้นด้วยแสง จะมีการบันทึกภาพการปลดปล่อยสารเรืองแสงของนิวคลีโอไทด์จากแต่ละกลุ่มบนกระจกสไลด์ที่ได้ เพื่อบันทึกความเหมือนกันของเบสแรกสำหรับกลุ่มนั้นๆ ตามด้วยขั้นตอนการตัด (cleavage) เพื่อกำจัด terminator และ fluorescent dye ออก จากนั้นเติมนิวคลีโอไทด์ชุดใหม่ และเอ็นไซม์ DNA polymerase เพื่อสังเคราะห์สาย cDNA ต่อ โดยการทำซ้ำต่อไปเรื่อยๆ ซึ่งในแต่ละรอบจะเป็นตัวกำหนดลำดับเบสที่อ่านได้ในแต่ละครั้ง

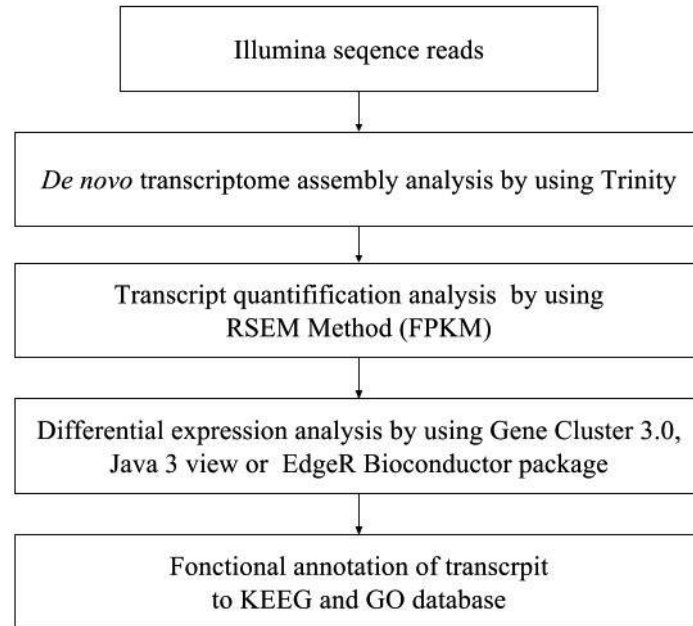
### 2.5.6 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

ขั้นตอน *De novo* transcriptome assembly และ Transcript abundance estimation *De novo* transcriptome assembly

เมื่อได้ข้อมูล RNA-Seq จากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสจากเครื่อง Illumina ทำให้ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีขนาดเท่ากันทุกเส้นในปริมาณมาก การทำ *De novo* transcriptome assembly ทำได้โดยการนำข้อมูล RNA-Seq เข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Trinity ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอนทั้งหมด 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก Inchworm ทำหน้าที่ในการต่อ reads ที่ได้จากเครื่อง Illumina เข้าด้วยกันตามตำแหน่งที่ซ้ำกันของเบสในแต่ละ reads ที่สามารถนำมาต่อกันได้เป็น contig ขั้นตอนที่สอง Chrysalis ทำหน้าที่ในการจัดกลุ่มของ contig ที่มีลักษณะเหมือนกันหรือคล้ายกันเข้าไว้ด้วยกัน โดยในแต่ละกลุ่มของ contig ที่มีความใกล้เคียงกันจะถูกเรียงติดกัน และสร้างเป็น *De Bruijn* graph ในขั้นตอนสุดท้าย Butterfly ทำหน้าที่ในการรวมแต่ละกลุ่มของ contig ที่ถูกเรียงเป็น *De Bruijn* graph แล้วนั้นให้ได้เป็น transcripts

#### 1) Transcript abundance estimation

เมื่อได้ข้อมูล transcripts ทั้งหมดมาแล้ว นำข้อมูลที่ได้เข้าสู่กระบวนการ RSEM (RNA-Seq by Expectation-Maximization) เพื่อทำการประเมินระดับการแสดงออกในแต่ละ transcripts ในแต่ละอวัยวะโดยการเปรียบเทียบกันเองในรูปของ isoform ที่มีอยู่ของแต่ละ transcripts ซึ่งจะทำการประเมินได้จากการเปรียบเทียบปริมาณ reads ใน transcripts ที่มีเหมือนกัน และแตกต่างกันในแต่ละ isoform ซึ่งในขณะทำการประเมิน reads ที่มีเหมือนกันจะไม่ถูกนับ ระบบจะนับเพียง reads ที่มีเฉพาะใน transcripts นั้นๆ ทำให้สามารถประเมินได้ออกมาเป็นตัวเลข FPKM (Fragments Per Kilobase of target transcript length per Million reads mapped) ซึ่งเป็นค่าการแสดงออกของแต่ละ transcripts



ภาพที่ 2-2 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

## 2) Differential expression

วิเคราะห์เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของ transcripts ในตัวอย่างเลือดที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* และตัวอย่างเลือดปกติ จากค่า FPKM (ค่าการแสดงออก) โดยอาศัยการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ประยุกต์ทางสถิติ R studio ในการสร้าง gene expression profile โดยเริ่มจากการตัดข้อมูลที่มีค่าการแสดงออกตัวใดตัวหนึ่งเป็น 0 ในตัวอย่างเลือดที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* และตัวอย่างเลือดปกติ จากนั้นทำการปรับค่าข้อมูลค่าการแสดงออกที่เหลือให้อยู่ในรูป  $\log_{10}$  ทั้งหมดเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบกันในช่วงจำนวนที่น้อยลง และประเมินค่าความแปรปรวนของค่าการแสดงออกระหว่าง ตัวอย่างเลือดที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* และตัวอย่างเลือดปกติ และตัดข้อมูลที่มีค่าความแปรปรวน ต่ำกว่า 2 ออก ทำให้เหลือเพียง transcripts ที่มีค่าการแสดงออกที่มีความแตกต่างกันมากตามค่าความแปรปรวนที่เกิดขึ้น หลังจากนั้นทำการจัดกลุ่มโดยใช้ package gplots ใน function heatmap.2

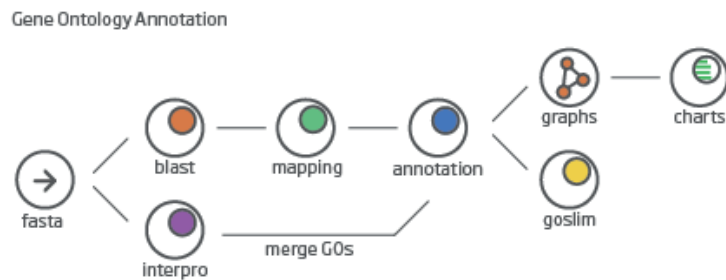
## 3) เลือกข้อมูล sequences

ทำการเลือกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ จากชื่อ transcripts ที่ถูกจัดกลุ่มตามลักษณะการแสดงออกทีละกลุ่ม เนื่องจากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ transcripts ที่มีอยู่จะอยู่ในรูปแบบ fasta file จำนวน 1 file ซึ่งจะเก็บ transcripts ไว้ทั้งหมด 93,344 transcripts ซึ่งจะไม่ถูกรวมไว้กับค่าการแสดงออก ดังนั้นเมื่อจัดกลุ่ม transcripts แล้วต้องเลือกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ทีละกลุ่มโดยการค้นหาจากชื่อ transcripts ในแต่ละกลุ่มและบันทึกข้อมูลในรูปแบบ fasta file โดยค้นหาจากชุดข้อมูลที่มีอยู่ทั้งหมดในฐานข้อมูลที่สร้างไว้ในโปรแกรม Cut off transcripts

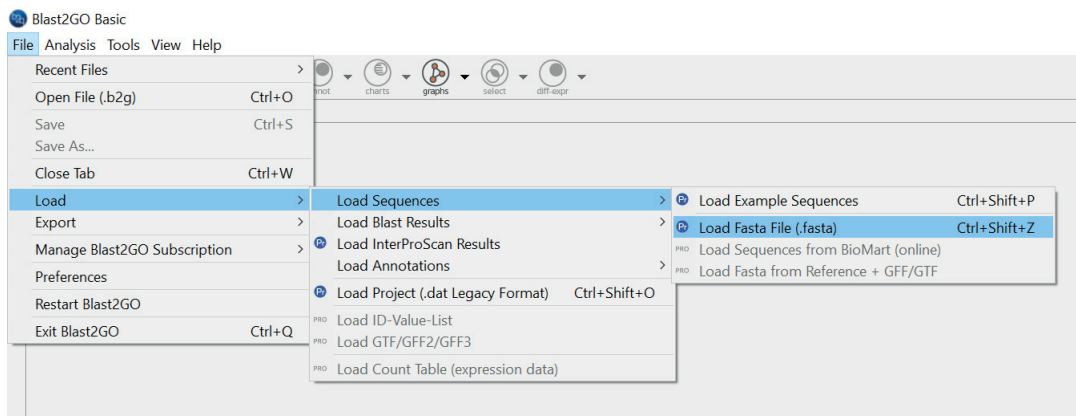
## 4) Functional annotation of transcripts

หลังจากทราบถึง Transcripts ที่มีการแสดงออกที่แตกต่างกันตาม gene expression profile จะถูกนำไประบุหน้าที่ของแต่ละ transcripts โดยใช้ software Blast2go ซึ่งเริ่มจากการระบุยีนโดย

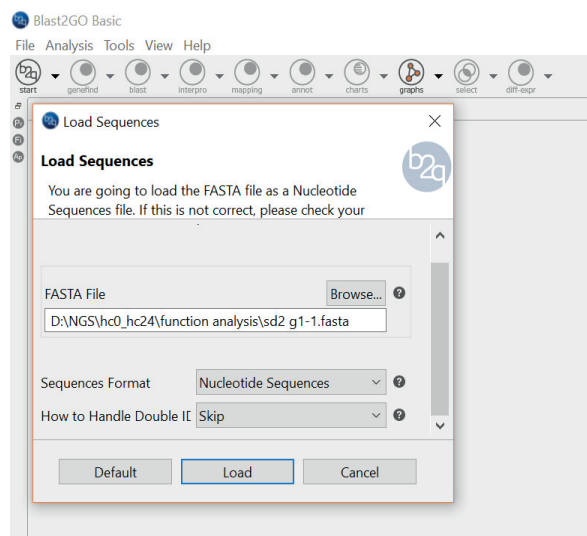
ใช้ blastx เนื่องจาก transcripts ที่ได้ถูกตัดส่วนที่เป็น intron ออกแล้วจึงเหลือเพียงส่วนที่เป็น protein coding region ทำให้สามารถเทียบ transcripts จากฐานข้อมูล blastx ได้โดยตรง เมื่อได้ชื่อยีนแล้วต้องทำการ map transcripts ที่มีกับฐานข้อมูลโปรตีนอื่นๆเพื่อให้สามารถเข้าถึงข้อมูลที่เกี่ยวข้องให้ได้มากที่สุดแล้วจึงทำการทำ gene ontology โดยการจัดระดับโดยการเชื่อมต่อกับฐานข้อมูล GO จากนั้นทำการระบุ pathway ของแต่ละ transcript จากฐานข้อมูล Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway database (KEGG) ซึ่งมีขั้นตอนดังภาพที่ 2-3 ถึง ภาพที่ 2-15



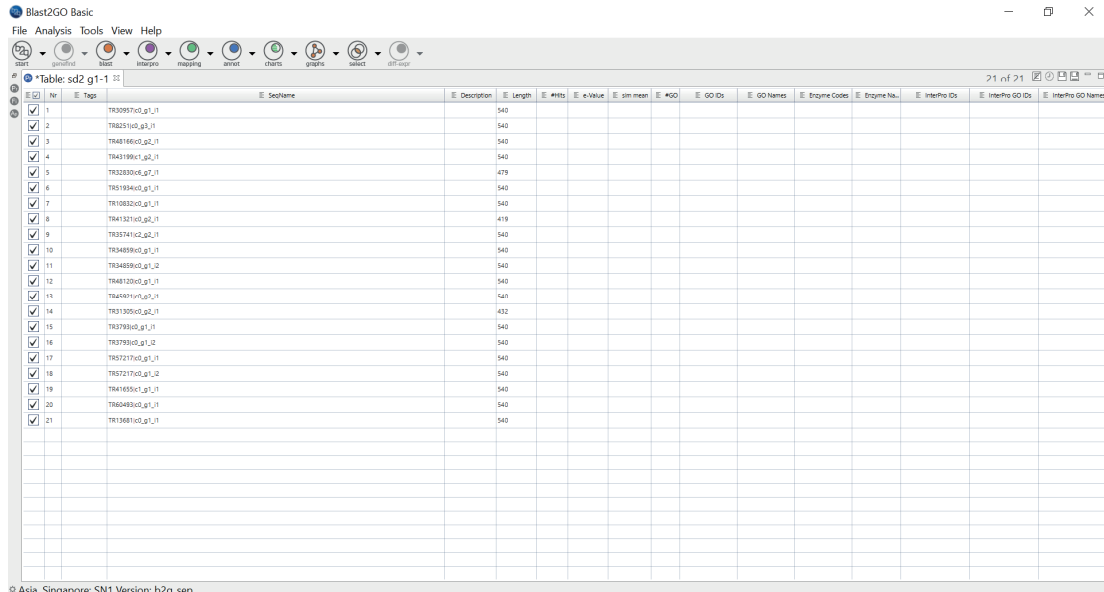
ภาพที่ 2-3 Gene Ontology analysis workflow



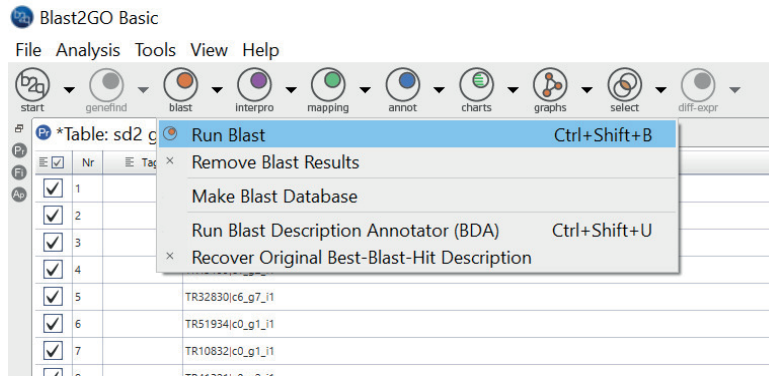
ภาพที่ 2-4 load fasta file



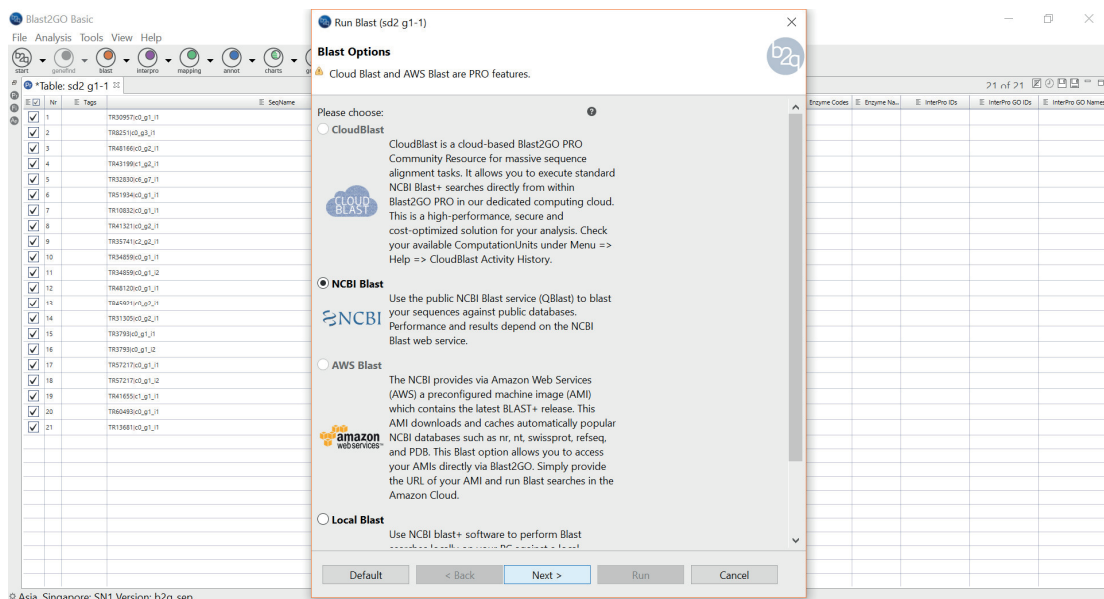
ภาพที่ 2-5 การตั้งค่า sequences format



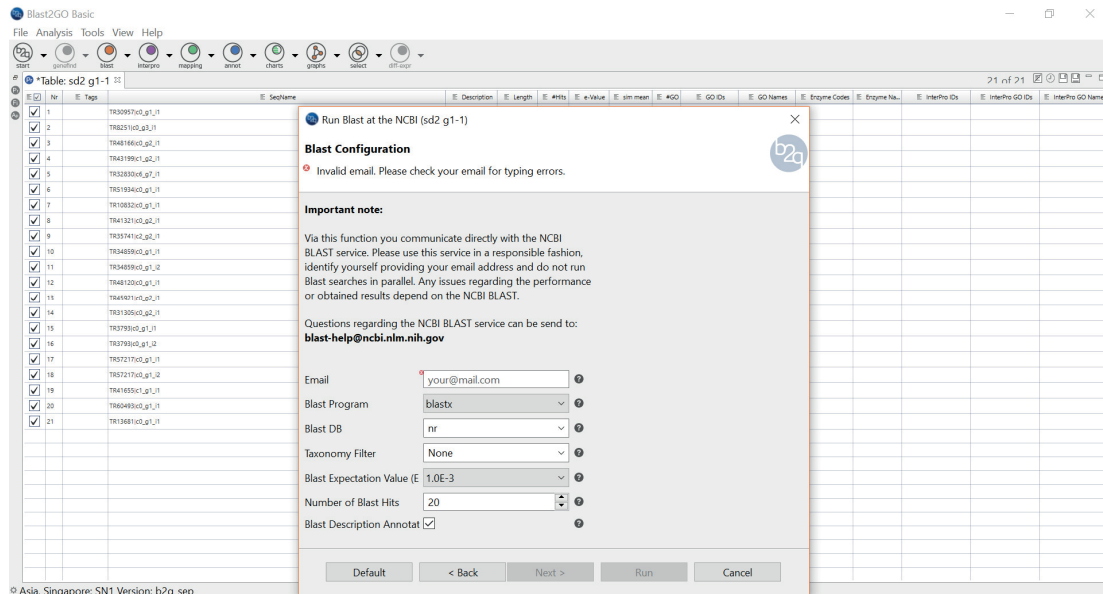
ภาพที่ 2-6 sequences ที่ถูกโหลดเข้ามาใน Blast2go



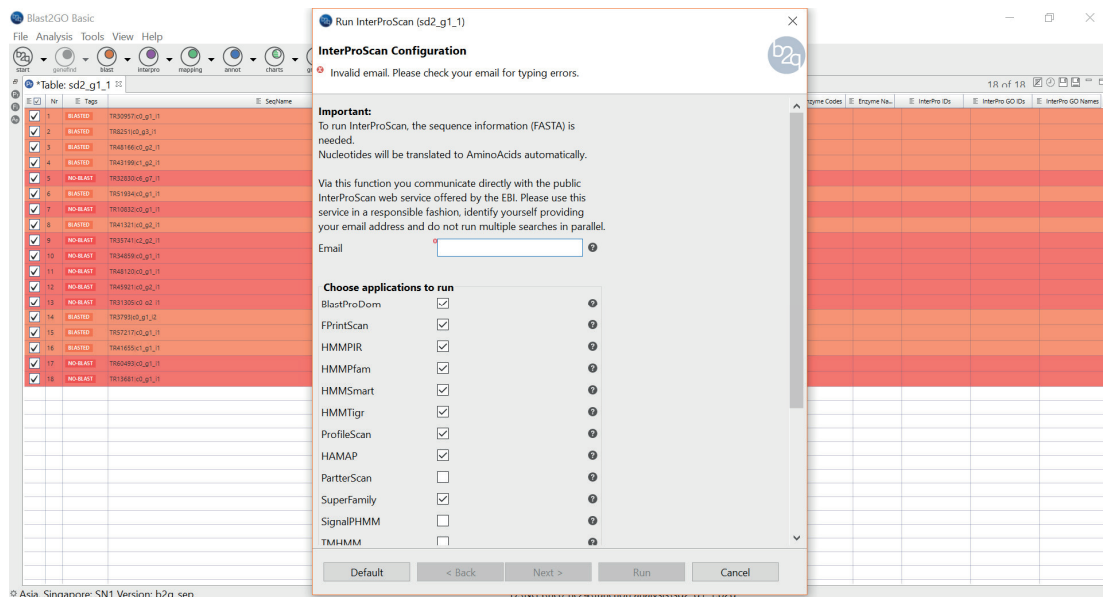
ภาพที่ 2-7 เลือก blast sequences



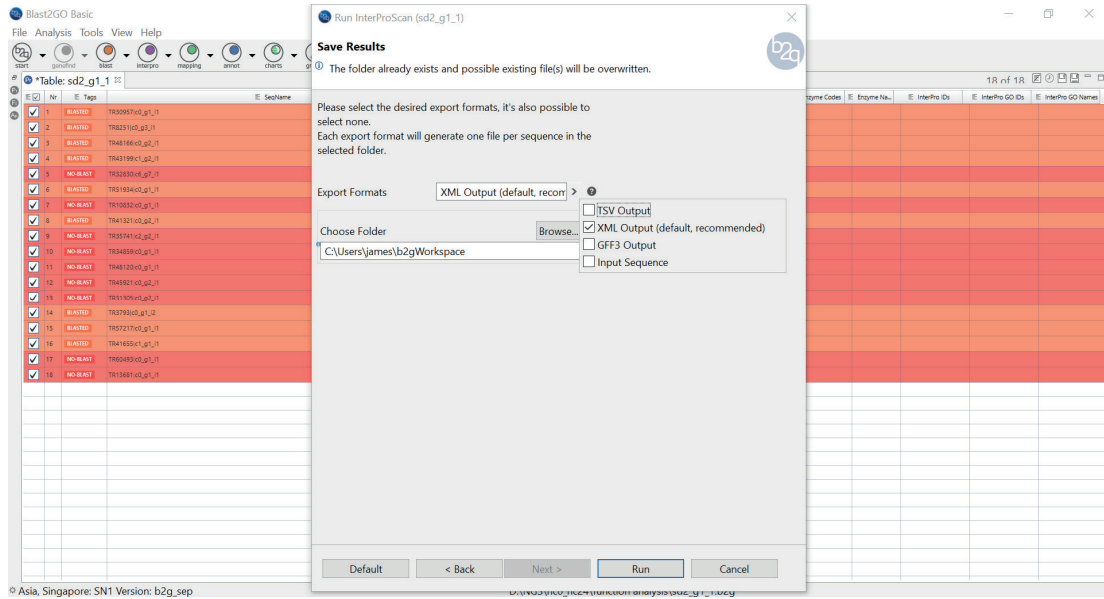
ภาพที่ 2-8 เลือกฐานข้อมูลสำหรับการ blast



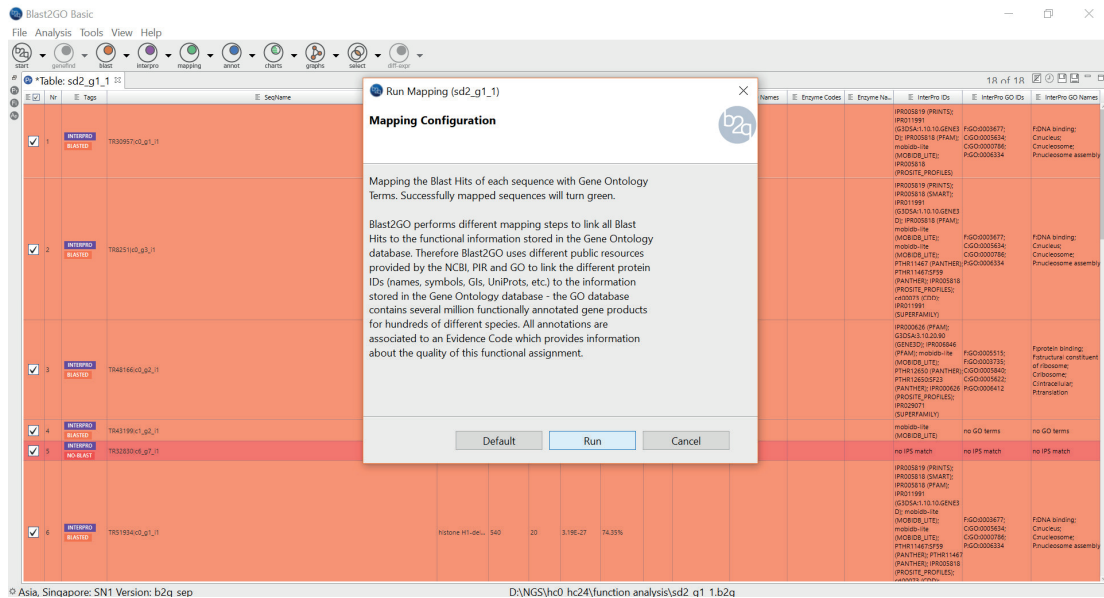
ภาพที่ 2-9 การกำหนดค่าการ blast



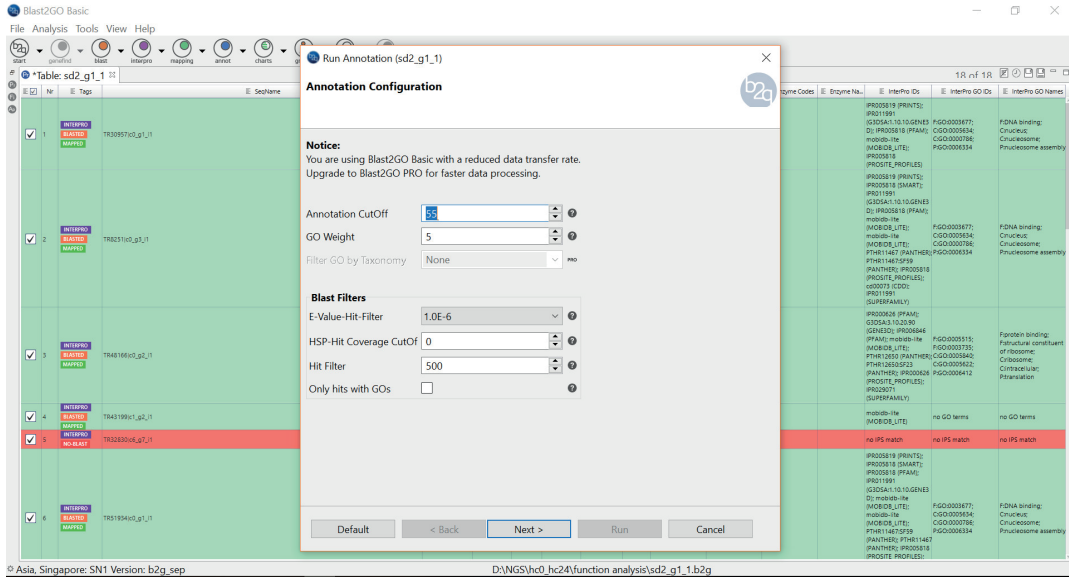
ภาพที่ 2-10 การทำ InterPro scan เป็นการระบุโปรตีนจากฐานข้อมูลโปรตีนอื่นๆ โดยการกำหนดค่าเป็น default



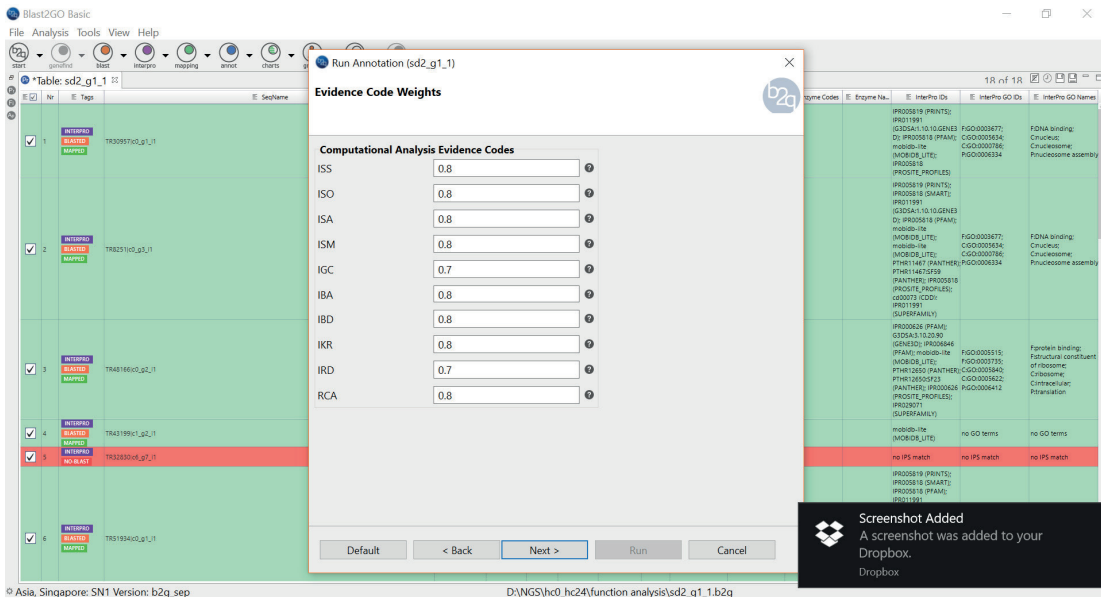
ภาพที่ 2-11 การ save ผลการทำ InterPro scan



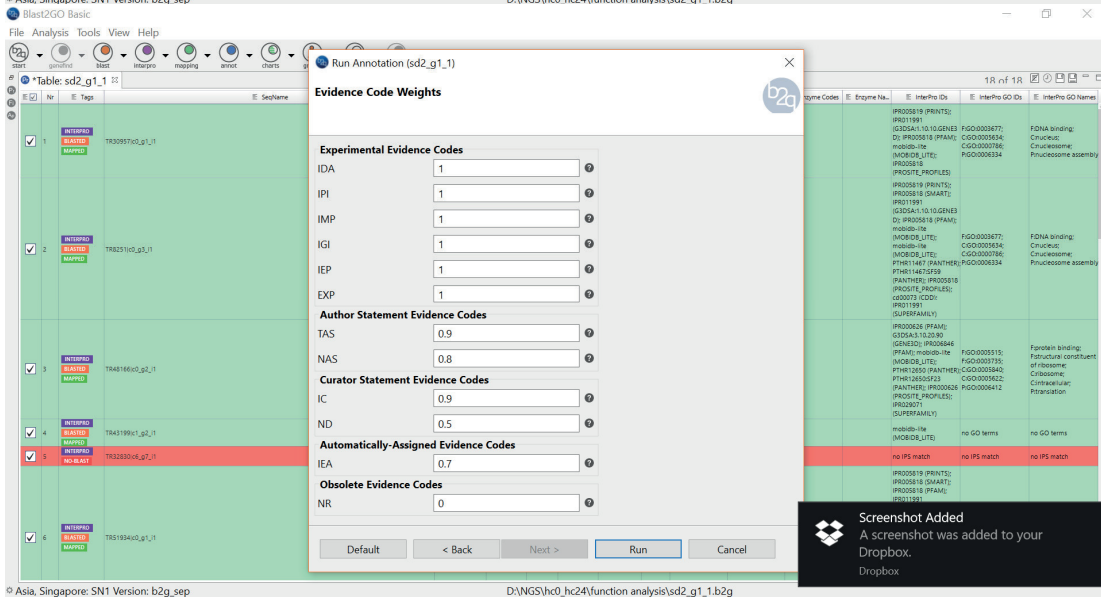
ภาพที่ 2-12 การ maps sequences เพื่อการดึงเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลอื่นๆไปสู่งการทำ GO term โดยกำหนดค่าเป็น default



ภาพที่ 2-13 การกำหนดค่าการทำ Annotation กำหนดค่าเป็น default



Screenshot Added  
A screenshot was added to your Dropbox.  
Dropbox



Screenshot Added  
A screenshot was added to your Dropbox.  
Dropbox

ภาพที่ 2-14 กำหนดค่า Evidence code เป็น default

Blast2GO Basic

File Analysis Tools View Help

Table: sd2\_g1\_1

#	Seq ID	Type	SeqName	Description	Length	bits	E-value	bit score	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme Code	Enzyme No.	InterPro IDs	InterPro GO Names	
1	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8399745.g1_1	Histone H1-delta-like	540	30	4.91E-21	51.82%	4	CGO000564; FGO000377; FGO000378; FGO000384	Cruciform DNA binding; Cruciform processing; Processome assembly			PRO0218 (PROT); PRO1191 (GDC64-10-1); GENEID; PRO0218 (PFAM); MODB-IR; MODB_UITE; PRO0218 (PROSITE_PROFILES); PRO0218 (SUPERFAMILY)	FGO000377; CGO000564; CGO000378; FGO000384	FGNA binding; Cruciform; Cruciform processing; Processome assembly
2	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8383163.g1_1	Histone H1-delta-like	540	30	5.23E-24	76.1%	4	CGO000564; FGO000377; FGO000378; FGO000384	Cruciform DNA binding; Cruciform processing; Processome assembly			PRO0218 (PROT); PRO0218 (SMART); PRO1191 (GDC64-10-1); GENEID; PRO0218 (PFAM); MODB-IR; MODB_UITE; MODB-IR; MODB_UITE; FHE1147 (PANTHER); FHE1147 (PANTHER); FHE1147 (PANTHER); PRO0218 (PROSITE_PROFILES); PRO0218 (SUPERFAMILY)	FGO000377; CGO000564; CGO000378; FGO000384	FGNA binding; Cruciform; Cruciform processing; Processome assembly
3	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8434401.g1_1	4S5 ribosomal S30	540	30	2.77E-08	19.6%	3	CGO000375; FGO000320; FGO000341	Factorization (certainty) of protein; Cytosolic small ribosomal subunit; Proteinization			PRO0248 (PFAM); GDC64-10-10 (GENEID); PRO0248 (PFAM); MODB-IR; MODB_UITE; FHE1147 (PANTHER); FHE1147 (PANTHER); PRO0248 (PROSITE_PROFILES); PRO0248 (SUPERFAMILY)	FGO000315; FGO000375; CGO000340; CGO000342; FGO000412	F08en binding; Factorization; Consistent of ribosome; Consistent of ribosome; Consistent of ribosome; Proteinization
4	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8431991.g2_1	Collagen alpha-1(V) chain	540	19	9.38E-11	79.84%	1	CGO000581	Collagen trimer			MODB-IR; MODB_UITE	no GO terms	no GO terms
5	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8322938.g1_1	...	478								no PS match	no PS match	no PS match	
6	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8519445.g1_1	Histone H1-delta-like	540	30	3.18E-27	74.33%	4	CGO000564; FGO000377; FGO000378; FGO000384	Cruciform DNA binding; Cruciform processing; Processome assembly			PRO0218 (PROT); PRO0218 (SMART); PRO0218 (PFAM); PRO1191 (GDC64-10-1); GENEID; MODB-IR; MODB_UITE; MODB-IR; MODB_UITE; FHE1147 (PANTHER); FHE1147 (PANTHER); FHE1147 (PANTHER); PRO0218 (PROSITE_PROFILES); PRO0218 (SUPERFAMILY)	FGO000377; CGO000564; CGO000378; FGO000384	FGNA binding; Cruciform; Cruciform processing; Processome assembly
7	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8198810.g1_1	...	540								no PS match	no PS match	no PS match	
8	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8417410.g1_1	anti-oxidant/reductant factor	418	20	1.20E-11	51.5%						PRO2408 (PFAM); PRO2476 (PRODOM)	no GO terms	no GO terms
9	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8351810.g1_1	...	540								no PS match	no PS match	no PS match	
10	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8348180.g1_1	...	540								no PS match	no PS match	no PS match	
11	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8491203.g1_1	...	540								no PS match	no PS match	no PS match	
12	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T84921103.g2_1	...	540								no PS match	no PS match	no PS match	
13	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8313810.g1_1	...	452								no PS match	no PS match	no PS match	
14	ns BLAST ns sd2 sd2	ns BLAST ns sd2 sd2	T8378103.g1_1	uridine phosphorylase 1	540	20	4.58E-18	62.3%	2	CGO000373; FGO000354; FGO000186; FGO000116	Cytosolic; Phosphatase activity; Phosphatase; Phosphatase; Phosphatase			MODB-IR; MODB_UITE	no GO terms	no GO terms

© Asia, Singapore; SN1 Version; bzq\_sep

D:\NGS\hch24\function analysis\sd2\_g1\_1.b2g

ภาพที่ 2-15 Sequences หลังจากการทำ Annotation

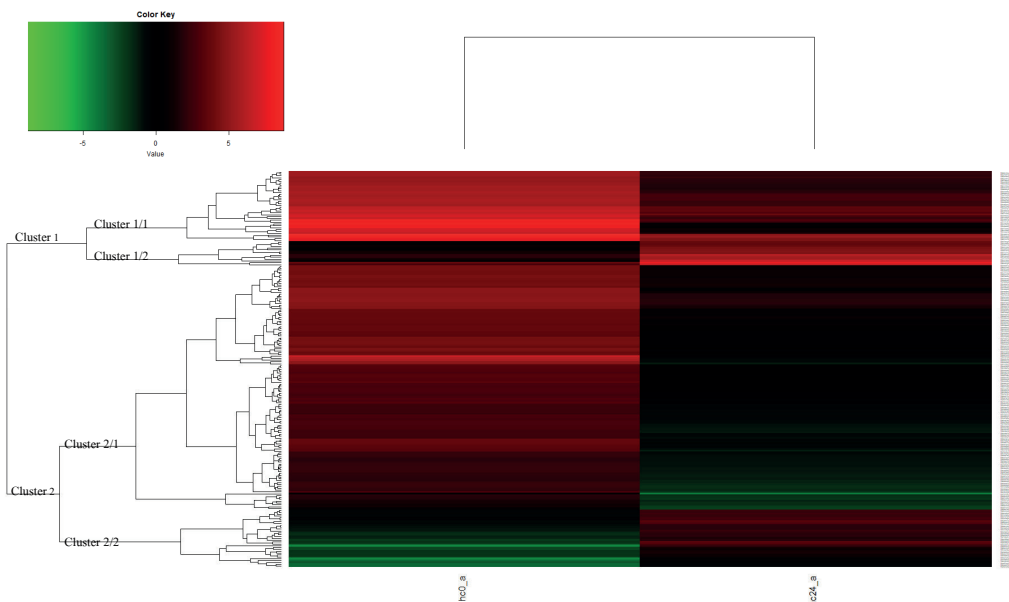


## บทที่ 3 ผลการวิจัย

### 3.1 ระดับการแสดงออกของยีน

#### 3.1.1 การกรองข้อมูล ตามค่าการแสดงออกของ transcripts (FPKM)

จากการทำ *De novo* transcriptome assembly ได้ transcripts ทั้งหมด 93,344 sequences และทำการตัดข้อมูลที่มีความน่าเชื่อถือน้อยออกโดยการตัด transcripts ที่มีค่าการแสดงออกเป็น 0 ทั้งชุดทดลองและ ชุดควบคุม ทำให้เหลือ transcripts เพียง 28,323 transcripts จากนั้นเปรียบเทียบค่า FPKM ในรูป  $\log_{10}$  และมีค่าความแปรปรวนระหว่างชุดทดลองและ ชุดควบคุมไม่ต่ำกว่า 2 จะได้ข้อมูลค่าความแตกต่างในการแสดงออกของแต่ละ transcript ทั้งหมด 214 transcripts และสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่โดยกลุ่มที่ 1 จะมีการเปลี่ยนแปลงค่าการแสดงออกระหว่างสภาวะปกติ และสภาวะที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* น้อยกว่ากลุ่มที่ 2 และแต่ละกลุ่มแบ่งเป็นกลุ่มละ 2 กลุ่มย่อยเป็นกลุ่มที่ 1/1, 1/2, 2/1 และ 2/2 ดังภาพที่ 3-1



ภาพที่ 3-1 heatmap การจัดกลุ่มตามลักษณะการแสดงออกของ transcripts โดยมี hc0\_a เป็นชุดควบคุม และ hc24\_a เป็นชุดทดลอง

## 3.2 การระบุหน้าที่ของยีน (Functional annotation of genes)

### 3.2.1 กลุ่มที่ 1/1 มีลักษณะการแสดงออกลดลง

มีทั้งหมด 18 transcripts มีลักษณะการแสดงออกลดลงเมื่อได้รับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ (hc0\_a ในภาพที่ 3-1) สามารถระบุชื่อยีนจากฐานข้อมูล blastx ได้ทั้งหมด 9 transcripts ดังตารางที่ 3-1 และนำไปอธิบายถึงหน้าที่ของยีนได้ทั้งหมด 5 transcripts จาก 9 transcripts ที่สามารถระบุชื่อยีนได้ดังตารางที่ 3-1 โดยการนำเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลออนไลน์ GO โดยในแต่ละ transcript จะแบ่งเป็นส่วนของ biological process, molecular function และ cellular component ดังตารางที่ 3-2 ซึ่งมีการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ดังตารางที่ 3-3, 3-4 และ 3-5 สามารถสรุปองค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ตามระดับที่ 2 (level 2) ของการจัดลำดับตามรูปแบบของ gene ontology ได้ดังนี้

biological process มีทั้งหมด 7 ส่วนประกอบ ประกอบไปด้วย cellular component organization or biogenesis จำนวน 5 transcripts, cellular process จำนวน 5 transcripts, biological regulation จำนวน 1 transcript, metabolic process จำนวน 1 transcript, growth จำนวน 1 transcript, single organism process จำนวน 1 transcript, regulation of biological process จำนวน 1 transcript ดังภาพที่ 3-2

molecular function มีทั้งหมด 2 ส่วนประกอบ ประกอบไปด้วย binding เป็นส่วนใหญ่ จำนวน 5 transcripts และ structural molecular activity จำนวน 1 transcript ดังภาพที่ 3-3

cellular component มีทั้งหมด 7 ส่วนประกอบ ประกอบไปด้วย molecular complex จำนวน 5 transcripts, cell part จำนวน 4 transcripts, organelle จำนวน 4 transcripts, cell จำนวน 4 transcripts, organelle part จำนวน 3 transcripts, extracellular region จำนวน 1 transcript และ extracellular region part จำนวน 1 transcript ดังภาพที่ 3-4

ตารางที่ 3-1 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR30957 c0_g1_i1	histone H1-delta-like	540	20	4.91E-21	81.85	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); IPR005818 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); IPR005818 (PROSITE_PROFILES)	F:GO:0003677; C:GO:0005634; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006335
TR8251 c0_g3_i1	histone H1-delta-like	540	20	5.52E-24	76.1	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR005818 (SMART); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); IPR005818 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR11467 (PANTHER); PTHR11467:SF59 (PANTHER); IPR005818 (PROSITE_PROFILES); cg000073 (CDD); IPR011991 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003677; C:GO:0005634; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006335

ตารางที่ 3-1 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim	mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR48166 c0_g2_i1	40S ribosomal S30	540	20	2.77E-58	78.6	5	5	F:GO:0005515; F:GO:0003735; P:GO:0042254; C:GO:0005840; P:GO:0006412	F:protein binding; F:structural constituent of ribosome; P:ribosome			IPR000626 (PFAM); G3DSA:3.10.20.90 (GENE3D); IPR006846 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR12650 (PANTHER); PTHR12650.SF23 (PANTHER); IPR000626 (PROSITE_PROFILES); IPR029071 (SUPERFAMILY)	F:GO:0005515; F:GO:0003735; C:GO:0005840; C:GO:0005622; P:GO:0006412	F:GO:0005515; F:GO:0003735; P:GO:0042254; C:GO:0005840; P:GO:0006413
TR43199 c1_g2_i1	Collagen alpha-1(IV) chain	540	19	9.03E-11	73.84	1	1	C:GO:0005581	C:collagen trimer			mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	C:GO:0005582
TR32830 c6_g7_i1	---NA---	479										no IPS match	no IPS match	
TR51934 c0_g1_i1	histone H1-delta like	540	20	3.19E-27	74.35	4	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR005818 (SMART); IPR005818 (PFAM); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR11467.SF59 (PANTHER); PTHR11467 (PANTHER); IPR005818 (PROSITE_PROFILES); cd00073 (CDD); IPR011991	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	

ตารางที่ 3-1 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR41321 c0_g2_i1	anti-lipopolysaccharide factor	419	20	1.01E-11	51.5						IPR024509 (PFAM); IPR024716 (PRODOM)	no GO terms	
TR35741 c2_g2_i1	---	540								no IPS match	no IPS match	no IPS match	
TR34859 c0_g1_i1	---	540								no IPS match	no IPS match	no IPS match	
TR48120 c0_g1_i1	---	540								no IPS match	no IPS match	no IPS match	
TR45921 c0_g2_i1	---	540								no IPS match	no IPS match	no IPS match	
TR31305 c0_g2_i1	---	432								no IPS match	no IPS match	no IPS match	
TR3793 c0_g1_i2	uridine phosphorylase 1	540	20	4.35E-18	62.5	5	C:GO:0005737; F:GO:0003824; P:GO:009166; P:GO:009116; F:GO:0004850	C:cytoplasm; F:catalytic activity; P:nucleotide catabolic process; P:nucleoside metabolic process; F:uridine phosphorylase activity		mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	C:GO:0005737; F:GO:0003824; P:GO:009166; P:GO:009116; F:GO:0004851	
TR57217 c0_g1_i1	N-acyl-L-amino acid amidohydrolase	540	1	0.0874811	52	2	P:GO:0008152; F:GO:0016787	P:metabolic process; F:hydrolase activity			no IPS match	no IPS match	P:GO:0008152; F:GO:0016788

ตารางที่ 3-1 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR41655 c1_g1_i1	venom toxin	540	20	2.26E-15	56.75	3	C:GO:0016942; P:GO:0001558; F:GO:0005520	C:insulin-like growth factor binding protein complex; P:regulation of cell growth; F:insulin-like growth factor binding			IPR000867 (SMART); IPR000867 (PFAM); PTHR14186.SF26 (PANTHER), IPR011390 (PANTHER), IPR010850 (PRODOM); IPR000867 (PROSITE_PROFILES); IPR009030 (SUPERFAMILY)	P:GO:0001558; C:GO:0005576; F:GO:0005520	C:GO:0016942; P:GO:0001558; F:GO:0005521
TR60493 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	
TR13681 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	

**ตารางที่ 3-2** หน้าที่ย่อยลงในกลุ่มที่ 1/1

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR8251 c0_g3_i1	histone H1-delta-like	cellular process, cellular component	nucleosome assembly	binding	binding	DNA binding	macromolecular complex, organelle, cell part, cell, organelle part	nucleosome, nucleus
TR51934 c0_g1_i1	histone H1-delta-like	cellular process, cellular component	nucleosome assembly	binding	binding	DNA binding	macromolecular complex, organelle, cell part, cell, organelle part	nucleosome, nucleus
TR41655 c1_g1_i1	venom toxin	regulation of biological process, biological regulation, growth, cellular process, cellular component, single-organism process	regulation of cell growth	binding	binding	insulin-like growth factor binding, protein binding	macromolecular complex, extracellular region part, extracellular region	insulin-like growth factor binding protein complex
TR48166 c0_g2_i1	ribosomal S30	cellular process, cellular component, metabolic process (translation)	translation, ribosome biogenesis	binding, structural molecule activity	binding, structural molecule activity	protein binding, structural constituent of ribosome	macromolecular complex, organelle, cell part, cell	ribosome
TR30957 c0_g1_i1	histone H1-delta-like	cellular process, cellular component	nucleosome assembly	binding	binding	DNA binding	macromolecular complex, organelle, cell part, cell, organelle part	nucleosome, nucleus

ตารางที่ 3-3 gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0008150	biological_process	Biological Process			0.66	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0071840	cellular component organization or biogenesis	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.82	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0044699	single-organism process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.22	1	TR41655 c1_g1_i1
2	GO:0040007	growth	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.36	1	TR41655 c1_g1_i1
2	GO:0008152	metabolic process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.13	1	TR48166 c0_g2_i1
2	GO:0065007	biological regulation	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.22	1	TR41655 c1_g1_i1
2	GO:0050789	regulation of biological process	Biological Process	GO:0008150, GO:0065007	biological_process, biological regulation	0.36	1	TR41655 c1_g1_i1
2	GO:0009987	cellular process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.58	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0050794	regulation of cellular process	Biological Process	GO:0050789, GO:0009987	regulation of biological process, cellular process	0.36	1	TR41655 c1_g1_i1
3	GO:0044238	primary metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0006807	nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.13	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0016043	cellular component organization	Biological Process	GO:0071840, GO:0009987	cellular component organization or biogenesis, cellular process	0.75	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0071704	organic substance metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0044763	single-organism cellular process	Biological Process	GO:0044699, GO:0009987	single-organism process, cellular process	0.36	1	TR41655 c1_g1_i1
3	GO:0044085	cellular component biogenesis	Biological Process	GO:0071840	cellular component organization or biogenesis	1.01	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0009058	biosynthetic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0044237	cellular metabolic process	Biological Process	GO:0008152, GO:0009987	metabolic process, cellular process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1

**ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0016049	cell growth	Biological Process	GO:0044763, GO:0040007	single-organism cellular process, growth	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1
3	GO:0040008	regulation of growth	Biological Process	GO:0050789, GO:0040007	regulation of biological process, growth	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1
4	GO:0019538	protein metabolic process	Biological Process	GO:0044238, GO:0043170	primary metabolic process, macromolecule metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0070271	protein complex biogenesis	Biological Process	GO:0044085	cellular component biogenesis	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:1901564	organonitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0006807	organic substance metabolic process, nitrogen compound metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0044260	cellular macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0044237	macromolecule metabolic process, cellular metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1

**ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:004249	cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044237	biosynthetic process, cellular	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0022613	ribonucleoprotein complex biogenesis	Biological Process	GO:0044085	metabolic process cellular component	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0006807, GO:0044237	biogenesis nitrogen compound metabolic process, cellular metabolic process	0.13	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0051128	regulation of cellular component organization	Biological Process	GO:0016043, GO:0050794	cellular component organization, regulation of cellular process	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1
4	GO:1901576	organic substance biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0071704	biosynthetic process, organic substance metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0001558	regulation of cell growth	Biological Process	GO:0051128, GO:0016049, GO:0040008	regulation of cellular component organization, cell growth, regulation of growth	1	1	TR41655 c1_g1_i1

ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0043933	macromolecular complex subunit organization	Biological Process	GO:0016043	cellular component organization	0.65	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0043170	macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0022607	cellular component assembly	Biological Process	GO:0016043, GO:0044085	cellular component organization, cellular component biogenesis	0.65	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0006996	organelle organization	Biological Process	GO:0016043	cellular component organization	0.23	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0006461	protein complex assembly	Biological Process	GO:0070271, GO:0071822, GO:0065003	protein complex biogenesis, protein complex subunit organization, macromolecular complex assembly	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0044271	cellular nitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0034641	cellular biosynthetic process, cellular nitrogen compound metabolic process	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1

**ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0043603	cellular amide metabolic process	Biological Process	GO:0034641	cellular nitrogen compound	0.22	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0009059, GO:0044260, GO:0044249	metabolic process macromolecule biosynthetic process, cellular macromolecule metabolic process, cellular biosynthetic process	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:0071824	protein-DNA complex subunit organization	Biological Process	GO:0043933	macromolecular complex subunit organization	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0065003	macromolecular complex assembly	Biological Process	GO:0022607, GO:0043933	cellular component assembly, macromolecular complex subunit organization	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0044267	cellular protein metabolic process	Biological Process	GO:0019538, GO:0044260	protein metabolic process, cellular macromolecule metabolic process	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0006518	peptide metabolic process	Biological Process	GO:1901564, GO:0043603	organonitrogen compound metabolic process, cellular amide metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:0051276	chromosome organization	Biological Process	GO:0006996	organelle organization	0.39	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0006325	chromatin organization	Biological Process	GO:0043933	macromolecular complex subunit organization	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0042254	ribosome biogenesis	Biological Process	GO:0022613	ribonucleoprotein complex biogenesis	1	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:1901576, GO:0043170	organic substance biosynthetic process, macromolecule metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:1901566	organonitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901576, GO:1901564	organic substance biosynthetic process, organonitrogen compound metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0071822	protein complex subunit organization	Biological Process	GO:0043933	macromolecular complex subunit organization	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0010467	gene expression	Biological Process	GO:0043170	macromolecule metabolic process	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1
6	GO:0043604	amide biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:0043603	cellular nitrogen compound biosynthetic process, cellular amide metabolic process	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
6	GO:0006333	chromatin assembly or disassembly	Biological Process	GO:0006325	chromatin organization	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
6	GO:0043043	peptide biosynthetic process	Biological Process	GO:0043604, GO:1901566, GO:0006518	amide biosynthetic process, organonitrogen compound biosynthetic process, peptide metabolic process	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0031497	chromatin assembly	Biological Process	GO:0065003, GO:0006333, GO:0006323	macromolecular complex assembly, chromatin assembly or disassembly, DNA packaging	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
6	GO:0006412	translation	Biological Process	GO:0010467, GO:0044267, GO:0043043, GO:0034645	gene expression, cellular protein metabolic process, peptide biosynthetic process, cellular macromolecule biosynthetic process	1	1	TR48166 c0_g2_i1
6	GO:0006334	nucleosome assembly	Biological Process	GO:0006461, GO:0031497, GO:0034728, GO:0065004	protein complex assembly, chromatin assembly, nucleosome organization, protein-DNA complex assembly	3	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-3 (ต่อ) gene ontology biological process graph กลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0065004	protein-DNA complex assembly	Biological Process	GO:0071824, GO:0034622	protein-DNA complex subunit organization, cellular macromolecular complex assembly	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
6	GO:0034728	nucleosome organization	Biological Process	GO:0071822, GO:0006325, GO:0071824	protein complex subunit organization, chromatin organization, protein-DNA complex subunit organization	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
6	GO:0034622	cellular macromolecular complex assembly	Biological Process	GO:0065003	macromolecular complex assembly	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
6	GO:0071103	DNA conformation change	Biological Process	GO:0051276	chromosome organization	0.65	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
7	GO:0006323	DNA packaging	Biological Process	GO:0071103	DNA conformation change	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1

**ตารางที่ 3-4** gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0003674	molecular_function	Molecular Function			1.6	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0005488	binding	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	2.06	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0005198	structural molecule activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0097159	organic cyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:1901363	heterocyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0005515	protein binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	2.36	2	TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0003735	structural constituent of ribosome	Molecular Function	GO:0005198	structural molecule activity	1	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0019838	growth factor binding	Molecular Function	GO:0005515	protein binding	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1

ตารางที่ 3-4 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0003676	nucleic acid binding	Molecular Function	GO:0097159, GO:1901363	organic cyclic compound binding, heterocyclic compound binding	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0005520	insulin-like growth factor binding	Molecular Function	GO:0019838	growth factor binding	1	1	TR41655 c1_g1_i1
5	GO:0003677	DNA binding	Molecular Function	GO:0003676	nucleic acid binding	3	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-5 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0005575	cellular_component	Cellular Component			1.53	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0005623	cell	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.6	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0032991	macromolecular complex	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	1.51	5	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0043226	organelle	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	1.25	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0005576	extracellular region	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.36	1	TR41655 c1_g1_i1
2	GO:0044421	extracellular region part	Cellular Component	GO:0005575, GO:0005576	cellular_component, extracellular region	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1

**ตารางที่ 3-5 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
2	GO:0044464	cell part	Cellular Component	GO:0005575, GO:0005623	cellular_component, cell	0.99	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
2	GO:0044422	organelle part	Cellular Component	GO:0043226, GO:0005575	organelle, cellular_component	0.65	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0044446	intracellular organelle part	Cellular Component	GO:0043229, GO:0044422, GO:0044424	intracellular organelle, organelle part, intracellular part	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0032993	protein-DNA complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0043228	non-membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	0.75	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0016942	insulin-like growth factor binding protein complex	Cellular Component	GO:0044421, GO:0005615, GO:0036454	extracellular region part, extracellular space, growth factor complex	1	1	TR41655 c1_g1_i1
3	GO:0005615	extracellular space	Cellular Component	GO:0044421	extracellular region part	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1

ตารางที่ 3-5 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0000785	chromatin	Cellular Component	GO:0032991, GO:0044427	macromolecular complex, chromosomal part	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0044424	intracellular part	Cellular Component	GO:0044464, GO:0005622	cell part, intracellular	1.66	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:1990904	ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
3	GO:0043229	intracellular organelle	Cellular Component	GO:0043226, GO:0044424	organelle, intracellular part	2.09	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0005622	intracellular	Cellular Component	GO:0044464	cell part	0.99	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
3	GO:0043227	membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1

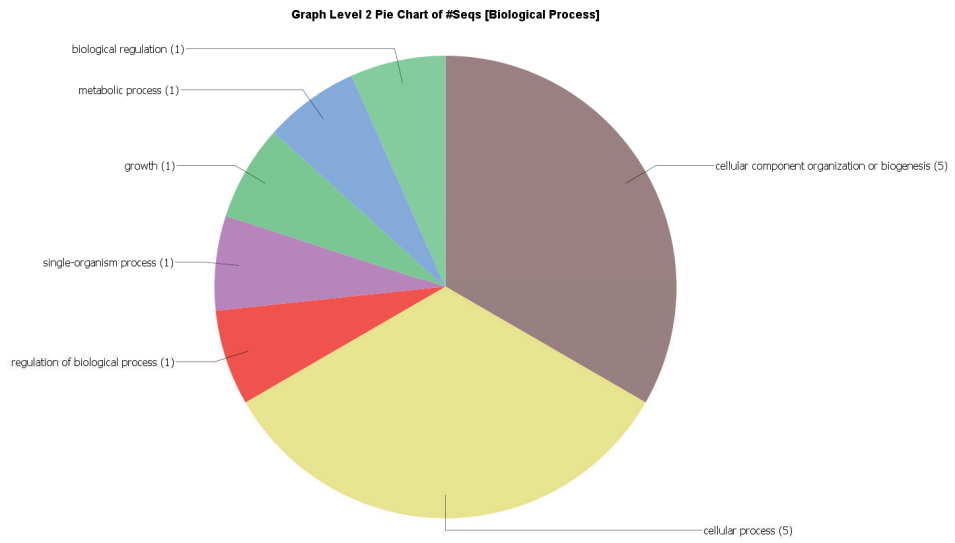
ตารางที่ 3-5 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0043234	protein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	1.44	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR41655 c1_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0043232	intracellular non-membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043228, GO:0043229	non-membrane-bounded organelle, intracellular organelle	1.25	4	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR48166 c0_g2_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0000786	nucleosome	Cellular Component	GO:0044815, GO:0032993, GO:0000785, GO:0044427	DNA packaging complex, protein-DNA complex, chromatin, chromosomal part	3	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0044444	cytoplasmic part	Cellular Component	GO:0005737, GO:0044424	cytoplasm, intracellular part	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0005737	cytoplasm	Cellular Component	GO:0044424	intracellular part	0.36	1	TR48166 c0_g2_i1
4	GO:0044815	DNA packaging complex	Cellular Component	GO:0043234	protein complex	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0036454	growth factor complex	Cellular Component	GO:0043234	protein complex	0.6	1	TR41655 c1_g1_i1
4	GO:0030529	intracellular ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:1990904, GO:0044424	ribonucleoprotein complex, intracellular part	0.6	1	TR48166 c0_g2_i1

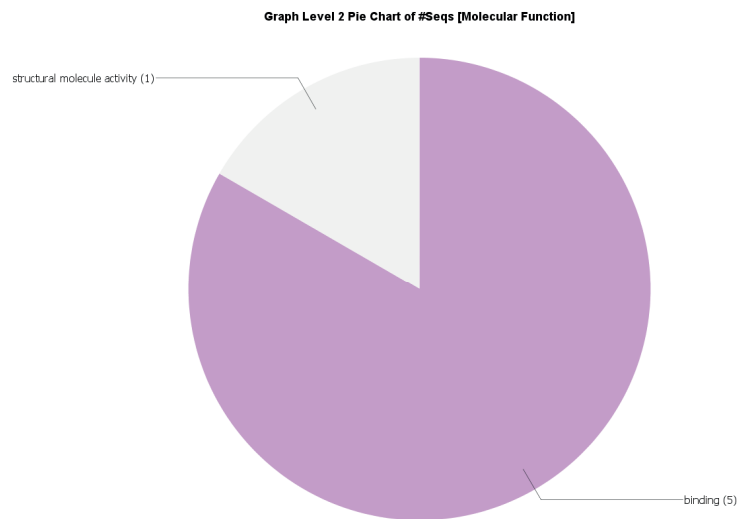
ตารางที่ 3-5 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0044427	chromosomal part	Cellular Component	GO:0044446, GO:0005694	intracellular organelle part, chromosome	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
4	GO:0043231	intracellular membrane- bounded organelle	Cellular Component	GO:0043227, GO:0043229	membrane-bounded organelle, intracellular organelle	1.8	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0005840	ribosome	Cellular Component	GO:0044444, GO:0030529, GO:0043232	cytoplasmic part, intracellular ribonucleoprotein complex, intracellular non-membrane- bounded organelle	1	1	TR48166 c0_g2_i1
5	GO:0005634	nucleus	Cellular Component	GO:0043231	intracellular membrane- bounded organelle	3	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1
5	GO:0005694	chromosome	Cellular Component	GO:0043232	intracellular non-membrane- bounded organelle	1.08	3	TR8251 c0_g3_i1, TR51934 c0_g1_i1, TR30957 c0_g1_i1

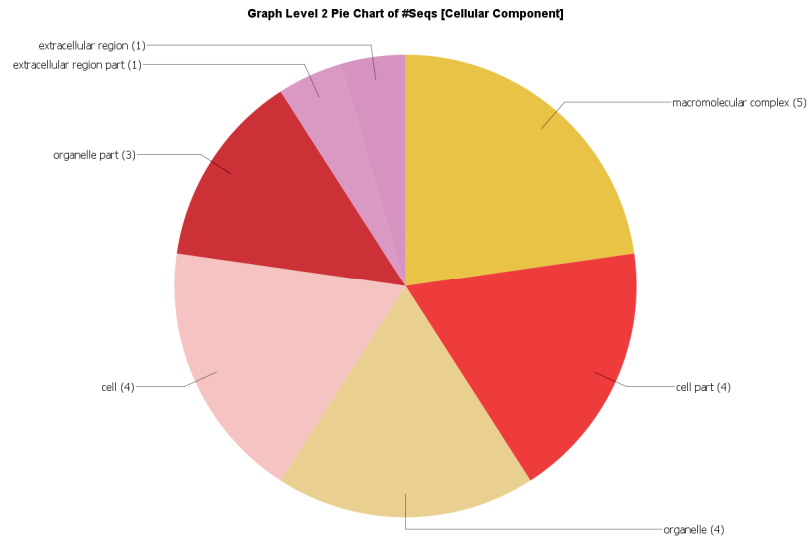




ภาพที่ 3-2 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 1/1



ภาพที่ 3-3 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 1/1



ภาพที่ 3-4 องค์ประกอบหน้าที่ ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 1/1

### 3.2.2 กลุ่มที่ 1/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มขึ้น

มีทั้งหมด 34 transcripts มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ (hc0\_a ในภาพที่ 3-1) สามารถระบุชื่อยีนจากฐานข้อมูล blastx ได้ทั้งหมด 9 transcripts และนำไปอธิบายถึงหน้าที่ของยีนได้ทั้งหมด 8 transcripts จาก 9 transcripts ที่สามารถระบุชื่อยีนได้ ดังตารางที่ 3-6 โดยการนำเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลออนไลน์ GO โดยในแต่ละ transcript จะเป็นส่วนของ biological process, molecular function และ cellular component ดังตารางที่ 3-7 โดยมีการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ดังภาพที่ 3-8, 3-9 และ 3-10 สามารถสรุปองค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ตามระดับที่ 2 (level 2) ของการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ได้ดังนี้

biological process มีทั้งหมด 12 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่มีความเกี่ยวข้องกับ metabolic process จำนวน 7 transcripts รองลงมาเป็น single-organism process จำนวน 6 transcripts, cellular process จำนวน 4 transcripts, biological regulation จำนวน 3 transcripts, และ อื่นๆ อีก 8 ส่วนประกอบ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-5

molecular function มีทั้งหมด 4 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็น binding จำนวน 7 transcripts, catalytic activity จำนวน 6 transcripts ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-6

cellular component มีทั้งหมด 7 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็นส่วนของ cell จำนวน 2 transcripts, macromolecular complex จำนวน 2 transcripts, cell part จำนวน 2 transcripts และส่วนอื่นๆ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-7

### ตารางที่ 3-6 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/2

SeqName	description	Length	#Hits	e-value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR30957 c0_g1_i1	histone H1-delta-like	540	20	4.91E-21	81.85	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); IPR005818 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); IPR005818 (PROSITE_PROFILES)	F:GO:0003677; C:GO:0005634; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006335
TR8251 c0_g3_i1	histone H1-delta-like	540	20	5.52E-24	76.1	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR005818 (SMART); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); IPR005818 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR11467 (PANTHER); PTHR11467:SF59 (PANTHER); IPR005818 (PROSITE_PROFILES); cd00073 (CDD); IPR011991 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003677; C:GO:0005634; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006335
TR48166 c0_g2_i1	40S ribosomal S50	540	20	2.77E-58	78.6	5	F:GO:0005515; F:GO:0003735; P:GO:0042254; C:GO:0005840; P:GO:0006412	F:protein binding; F:structural constituent of ribosome; P:ribosome biogenesis; C:ribosome; P:translation			IPR000626 (PFAM); G3DSA:3.10.20.90 (GENE3D); IPR006846 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR12650 (PANTHER); PTHR12650:SF23 (PANTHER); IPR000626 (PANTHER); IPR000626 (PROSITE_PROFILES); IPR029071 (SUPERFAMILY)	F:GO:0005515; F:GO:0003735; C:GO:0005840; C:GO:0005622; P:GO:0006412	F:GO:0005515; F:GO:0003735; P:GO:0042254; C:GO:0005840; P:GO:0006413
TR43199 c1_g2_i1	Collagen alpha-1(IV) chain	540	19	9.03E-11	73.84	1	C:GO:0005581	C:collagen trimer			mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	C:GO:0005582
TR32830 c6_g7_i1	---NA---	479									no IPS match	no IPS match	

ตารางที่ 3-6 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/2

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR51934 c0_g1_i1	histone H1-delta-like	540	20	3.19E-27	74.35	4	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:nucleus; F:DNA binding; C:nucleosome; P:nucleosome assembly			IPR005819 (PRINTS); IPR005818 (SMART); IPR005818 (PFAM); IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3D); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR11467:SF59 (PANTHER); PTHR11467 (PANTHER); IPR005818 (PROSITE_PROFILES); cd00073 (CDD); IPR011991 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003677; C:GO:0005634; C:GO:0000786; P:GO:0006334	C:GO:0005634; F:GO:0003677; C:GO:0000786; P:GO:0006335
TR10832 c0_g1_i1	---NA---	540											
TR41321 c0_g2_i1	anti-lipopolysaccharide factor	419	20	1.01E-11	51.5								
TR35741 c2_g2_i1	---NA---	540											
TR34859 c0_g1_i1	---NA---	540											
TR48120 c0_g1_i1	---NA---	540											
TR45921 c0_g2_i1	---NA---	540											
TR31305 c0_g2_i1	---NA---	432											

ตารางที่ 3-6 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 1/2

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	GO IDs
TR3793 c0_g1_i2	uridine phosphorylase 1	540	20	4.35E-18	62.5	5	C:GO:0005737; F:GO:0003824; P:GO:0009166; P:GO:0009116; F:GO:0004850	C:cytoplasm; F:catalytic activity; P:nucleotide catabolic process; P:nucleoside metabolic process; F:uridine phosphorylase activity			mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	C:GO:0005737; F:GO:0003824; P:GO:0009166; P:GO:0009116; F:GO:0004851
TR57217 c0_g1_i1	N-acyl-L-amino acid amidohydrolase	540	1	0.0874811	52	2	P:GO:0008152; F:GO:0016787	P:metabolic process; F:hydrolase activity			no IPS match	no IPS match	P:GO:0008152; F:GO:0016788
TR41655 c1_g1_i1	venom toxin	540	20	2.26E-15	56.75	3	C:GO:0016942; P:GO:0001558; F:GO:0005520	C:insulin-like growth factor binding protein complex; P:regulation of cell growth; F:insulin-like growth factor binding			IPR000867 (SMART); IPR000867 (PFAM); PTHR14186:SF26 (PANTHER); IPR011390 (PANTHER); IPR010850 (PRODOM); IPR000867 (PROSITE_PROFILES); IPR009030 (SUPERFAMILY)	P:GO:0001558; C:GO:0005576; F:GO:0005520	C:GO:0016942; P:GO:0001558; F:GO:0005521
TR60493 c0_g1_i1	---	540									no IPS match	no IPS match	
TR13681 c0_g1_i1	---	540									no IPS match	no IPS match	

ตารางที่ 3-7 หน้าที่ยังอยู่ในกลุ่มที่ 1/2

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR13837 c0_g1_i1	ccaat enhancer-binding	regulation of biological process, biological regulation, metabolic process, cellular process	regulation of transcription, DNA-templated	nucleic acid binding, binding	transcription factor activity, sequence-specific DNA binding, sequence-specific DNA binding	macromolecular complex, cell part, cell	transcription factor complex
TR33858 c0_g1_i1	cyclooxygenase	detoxification, multicellular organismal process, single-organism process, biological regulation, metabolic process, cellular process	cellular oxidant detoxification, regulation of blood pressure, oxidation-reduction process, cyclooxygenase pathway, leukotriene metabolic process, response to oxidative stress	antioxidant activity, binding, catalytic activity	peroxidase activity, heme binding, peroxidase activity, prostaglandin-endoperoxide synthase activity, oxidoreductase activity	membrane part, membrane	integral component of membrane
TR9688 c0_g1_i1	phosphoenolpyruvate carboxykinase	single-organism process, metabolic process	gluconeogenesis	binding, catalytic activity	GTP binding, phosphoenolpyruvate carboxykinase activity		

**ตารางที่ 3-7 (ต่อ) หน้าที่ย่อยในในกลุ่มที่ 1/2**

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR60392 c0_g1_i1	MAP kinase-interacting serine threonine-kinase 1 isoform X1	single-organism process, metabolic process, cellular process	serine family amino acid metabolic process, protein phosphophorylati on	binding, catalytic activity	ATP binding, protein serine/threonine kinase activity		
TR4161 c0_g1_i1	elongation factor 1-alpha	growth, locomotion, multicellular organismal process, single-organism process, developmental process, regulation of biological process, biological regulation, metabolic process, cellular process, reproduction	growth, locomotion, determination of adult lifespan, embryo development ending in birth or egg hatching, nematode larval development, regulation of translational elongation, reproduction	binding, catalytic activity	GTP binding, translation elongation factor activity, GTPase activity	macromolecular complex, cell part, cell, organelle	ribosome



**ตารางที่ 3-7 (ต่อ) หน้าที่ย่อยในกลุ่มที่ 1/2**

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR11428 c0_g1_i1	Phosphoenolpyruvate carboxykinase	single-organism process	gluconeogenesis	binding, catalytic activity	GTP binding, phosphate carboxykinase activity		
TR61286 c3_g5_i1	prophendoxidase	single-organism process, metabolic process	oxidation-reduction process	binding, catalytic activity	metal ion binding, oxidoreductase activity		
TR13681 c1_g2_i1	serum amyloid A-like					extracellular region	extracellular region

ตารางที่ 3-8 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0008150	biological_process	Biological Process			3.63	7	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
2	GO:0050789	regulation of biological process	Biological Process	GO:0065007, GO:0008150	biological regulation, biological_process	0.21	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0098754	detoxification	Biological Process	GO:0009636, GO:0008150	response to toxic substance, biological_process	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
2	GO:0044699	single-organism process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1.69	6	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
2	GO:0040007	growth	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1	1	TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0032502	developmental process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.39	1	TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0000003	reproduction	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1	1	TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0050896	response to stimulus	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.44	1	TR33858 c0_g1_i1
2	GO:0009987	cellular process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.85	4	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0065007	biological regulation	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.48	3	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
2	GO:0032501	multicellular organismal process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.75	2	TR33858 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0040011	locomotion	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1	1	TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0008152	metabolic process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1.35	7	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
3	GO:0019222	regulation of metabolic process	Biological Process	GO:0008152, GO:0050789	metabolic process, regulation of biological process	0.35	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0044707	single-multicellular organism process	Biological Process	GO:0032501, GO:0044699	multicellular organismal process, single-organism process	1.03	1	TR4161 c0_g1_i1
3	GO:1990748	cellular detoxification	Biological Process	GO:0009987, GO:0098754	cellular process, detoxification	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0003008	system process	Biological Process	GO:0032501	multicellular organismal process	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0065008	regulation of biological quality	Biological Process	GO:0065007	biological regulation	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0044237	cellular metabolic process	Biological Process	GO:0009987, GO:0008152	cellular process, metabolic process	0.81	4	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

**ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0044763	single-organism cellular process	Biological Process	GO:0009987, GO:0044699	cellular process, single-organism process	0.42	2	TR33858 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1
3	GO:0044238	primary metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.47	6	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
3	GO:0048856	anatomical structure development	Biological Process	GO:0032502	developmental process	0.65	1	TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0042221	response to chemical	Biological Process	GO:0050896	response to stimulus	0.13	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0009058	biosynthetic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.44	5	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
3	GO:0071704	organic substance metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.78	6	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
3	GO:0050794	regulation of cellular process	Biological Process	GO:0009987, GO:0050789	cellular process, regulation of biological process	0.26	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0044710	single-organism metabolic process	Biological Process	GO:0044699, GO:0008152	single-organism process, metabolic process	1.61	5	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
3	GO:0006950	response to stress	Biological Process	GO:0050896	response to stimulus	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0006807	nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.39	3	TR13837 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0044767	single-organism developmental process	Biological Process	GO:0032502, GO:0044699	developmental process, single-organism process	0.65	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0003013	circulatory system process	Biological Process	GO:0003008	system process	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0044237, GO:0006807	cellular metabolic process, nitrogen compound metabolic process	0.18	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0009636	response to toxic substance	Biological Process	GO:0042221	response to chemical	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0006082	organic acid metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0044237, GO:0044763, GO:0044281	organic substance metabolic process, cellular metabolic process, single-organism cellular process, small molecule metabolic process	0.57	2	TR33858 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1
4	GO:1901576	organic substance biosynthetic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0009058	organic substance metabolic process, biosynthetic process	0.57	5	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0060255	regulation of macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0019222, GO:0043170	regulation of metabolic process, macromolecule metabolic process	0.49	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0005975	carbohydrate metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0044238	organic substance metabolic process, primary metabolic process	0.16	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0044255	cellular lipid metabolic process	Biological Process	GO:0006629, GO:0044237, GO:0044763	lipid metabolic process, cellular metabolic process, single-organism cellular process	0.35	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0008340	determination of adult lifespan	Biological Process	GO:0044707, GO:0010259	single-multicellular organism process, multicellular organism aging	1	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:1901564	organonitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0006807	organic substance metabolic process, nitrogen compound metabolic process	0.44	2	TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0055114	oxidation-reduction process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	2	2	TR33858 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
4	GO:0044249	cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044237	biosynthetic process, cellular metabolic process	0.48	3	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

**ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0044711	single-organism biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044710	biosynthetic process, single-organism metabolic process	0.31	3	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0044260	cellular macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0044237, GO:0043170	cellular metabolic process, macromolecule metabolic process	0.65	3	TR13837 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0007275	multicellular organism development	Biological Process	GO:0044767, GO:0044707, GO:0048856	single-organism developmental process, single-multicellular organism process, anatomical structure development	1.08	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0008217	regulation of blood pressure	Biological Process	GO:0065008, GO:0008015	regulation of biological quality, blood circulation	1	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0006725	cellular aromatic compound metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.05	1	TR13837 c0_g1_i1
4	GO:0019538	protein metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0044238	macromolecule metabolic process, primary metabolic process	0.35	2	TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0019222, GO:0006807	regulation of metabolic process, nitrogen compound metabolic process	0.29	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0044723	single-organism carbohydrate metabolic process	Biological Process	GO:0005975, GO:0044710	carbohydrate metabolic process, single-organism metabolic process	0.26	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0043170	macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.48	3	TR13837 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0046483	heterocycle metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.05	1	TR13837 c0_g1_i1
4	GO:0006979	response to oxidative stress	Biological Process	GO:0006950	response to stress	1	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0006793	phosphorus metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.22	1	TR60392 c0_g1_i1
4	GO:0031323	regulation of cellular metabolic process	Biological Process	GO:0050794, GO:0044237, GO:0019222	regulation of cellular process, cellular metabolic process, regulation of metabolic process	0.43	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0006139	nucleobase-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0046483, GO:1901360, GO:0034641, GO:0044238, GO:0006725	heterocycle metabolic process, organic cyclic compound metabolic process, cellular nitrogen compound metabolic process, primary metabolic process, cellular aromatic compound metabolic process	0.08	1	TR13837 c0_g1_i1
4	GO:0007568	aging	Biological Process	GO:0044767	single-organism developmental process	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0006629	lipid metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0044710, GO:0044238	organic substance metabolic process, single-organism metabolic process, primary metabolic process	0.21	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:1901360	organic cyclic compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.05	1	TR13837 c0_g1_i1
4	GO:0044281	small molecule metabolic process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	0.6	4	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0098869	cellular oxidant detoxification	Biological Process	GO:1990748	cellular detoxification	1	1	TR33858 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0080090	regulation of primary metabolic process	Biological Process	GO:0019222, GO:0044238	regulation of metabolic process, primary metabolic process	0.21	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0009791	post-embryonic development	Biological Process	GO:0044707, GO:0007275	single-multicellular organism process, multicellular organism development	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0009889	regulation of biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0019222	biosynthetic process, regulation of metabolic process	0.35	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:1901362	organic cyclic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901360, GO:1901576	organic cyclic compound metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.08	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0010468	regulation of gene expression	Biological Process	GO:0010467, GO:0060255	gene expression, regulation of macromolecule metabolic process	0.82	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:1901576, GO:0043170	organic substance biosynthetic process, macromolecule metabolic process	0.43	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0043436	oxoacid metabolic process	Biological Process	GO:0006082	organic acid metabolic process	0.35	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0090304	nucleic acid metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0006139	macromolecule metabolic process, nucleobase-containing compound metabolic process	0.08	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0044267	cellular protein metabolic process	Biological Process	GO:0044260, GO:0019538	cellular macromolecule metabolic process, protein metabolic process	0.58	2	TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0002164	larval development	Biological Process	GO:0009791, GO:0007275	post-embryonic development, multicellular organism development	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0051252	regulation of RNA metabolic process	Biological Process	GO:0019219, GO:0060255, GO:0016070	regulation of nucleobase-containing compound metabolic process, regulation of macromolecule metabolic process, RNA metabolic process	0.22	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0006793	phosphorus metabolic process	0.36	1	TR60392 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0010556	regulation of macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0009059, GO:0060255, GO:0009889	macromolecule biosynthetic process, regulation of macromolecule metabolic process, regulation of biosynthetic process	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0006518	peptide metabolic process	Biological Process	GO:0043603, GO:1901564	cellular amide metabolic process, organonitrogen compound metabolic process	0.13	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0010259	multicellular organism aging	Biological Process	GO:0007568, GO:0007275	aging, multicellular organism development	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0016053	organic acid biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0006082, GO:1901576, GO:0044283	cellular biosynthetic process, organic acid metabolic process, organic substance biosynthetic process, small molecule biosynthetic process	0.08	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0016051	carbohydrate biosynthetic process	Biological Process	GO:0044711, GO:0044723, GO:1901576	single-organism biosynthetic process, single-organism carbohydrate metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.43	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0036211	protein modification process	Biological Process	GO:0019538, GO:0043412	protein metabolic process, macromolecule modification	0.36	1	TR60392 c0_g1_i1
5	GO:1901566	organonitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901564, GO:1901576	organonitrogen compound metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.13	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0044271	cellular nitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0034641	cellular biosynthetic process, cellular nitrogen compound metabolic process	0.16	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0032268	regulation of cellular protein metabolic process	Biological Process	GO:0051246, GO:0044267, GO:0031323	regulation of protein metabolic process, cellular protein metabolic process, regulation of cellular metabolic process	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0044260, GO:0009059	cellular biosynthetic process, cellular macromolecule metabolic process, macromolecule biosynthetic process	0.72	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0031326	regulation of cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0009889, GO:0031323	cellular biosynthetic process, regulation of biosynthetic process, regulation of cellular metabolic process	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0006631	fatty acid metabolic process	Biological Process	GO:0032787, GO:0044255	monocarboxylic acid metabolic process, cellular lipid metabolic process	0.58	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0008610	lipid biosynthetic process	Biological Process	GO:0044711, GO:0006629, GO:1901576	single-organism biosynthetic process, lipid metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.08	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0043603	cellular amide metabolic process	Biological Process	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	0.22	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0018130	heterocycle biosynthetic process	Biological Process	GO:0046483, GO:0044249	heterocycle metabolic process, cellular biosynthetic process	0.08	1	TR13837 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0034654	nucleobase-containing compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:1901362, GO:0019438, GO:0006139, GO:0018130	cellular nitrogen compound biosynthetic process, organic cyclic compound biosynthetic process, aromatic compound biosynthetic process, nucleobase-containing compound metabolic process, heterocycle biosynthetic process	0.13	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0010467	gene expression	Biological Process	GO:0043170	macromolecule metabolic process	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0009790	embryo development	Biological Process	GO:0007275	multicellular organism development	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:1901605	alpha-amino acid metabolic process	Biological Process	GO:1901564, GO:0006082	organonitrogen compound metabolic process, organic acid metabolic process	0.6	1	TR60392 c0_g1_i1
5	GO:0051246	regulation of protein metabolic process	Biological Process	GO:0080090, GO:0019538, GO:0060255	regulation of primary metabolic process, protein metabolic process, regulation of macromolecule metabolic process	0.22	1	TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0019219	regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0080090, GO:0051171, GO:0006139, GO:0031323	regulation of primary metabolic process, regulation of nitrogen compound metabolic process, nucleobase-containing compound metabolic process, regulation of cellular metabolic process	0.13	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0034248	regulation of cellular amide metabolic process	Biological Process	GO:0043603, GO:0051171, GO:0031323	cellular amide metabolic process, regulation of nitrogen compound metabolic process, regulation of cellular metabolic process	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0019438	aromatic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0006725	cellular biosynthetic process, cellular aromatic compound metabolic process	0.08	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0043412	macromolecule modification	Biological Process	GO:0043170	macromolecule metabolic process	0.22	1	TR60392 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0005996	monosaccharide metabolic process	Biological Process	GO:0044723, GO:0044281	single-organism carbohydrate metabolic process, small molecule metabolic process	0.43	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
5	GO:0016070	RNA metabolic process	Biological Process	GO:0044260, GO:0090304	cellular macromolecule metabolic process, nucleic acid metabolic process	0.13	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0044283	small molecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0044711, GO:0044281	single-organism biosynthetic process, small molecule metabolic process	0.48	3	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
5	GO:0008015	blood circulation	Biological Process	GO:0003013	circulatory system process	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
6	GO:0032774	RNA biosynthetic process	Biological Process	GO:0034654, GO:0009059, GO:0016070	nucleobase-containing compound biosynthetic process, macromolecule biosynthetic process, RNA metabolic process	0.22	1	TR13837 c0_g1_i1
6	GO:0046364	monosaccharide biosynthetic process	Biological Process	GO:0016051, GO:0005996, GO:0044283	carbohydrate biosynthetic process, monosaccharide metabolic process, small molecule biosynthetic process	0.72	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	Biological Process	GO:0032774, GO:0051252, GO:0031326, GO:0010556	RNA biosynthetic process, regulation of RNA metabolic process, regulation of cellular biosynthetic process, regulation of macromolecule biosynthetic process	0.36	1	TR13837 c0_g1_i1
6	GO:0006464	cellular protein modification process	Biological Process	GO:0036211, GO:0044267	protein modification process, cellular protein metabolic process	0.6	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:0033559	unsaturated fatty acid metabolic process	Biological Process	GO:0006631	fatty acid metabolic process	0.96	1	TR33858 c0_g1_i1
6	GO:0016310	phosphorylation	Biological Process	GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	0.6	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:2000112	regulation of cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0034645, GO:0031326, GO:0010556	cellular macromolecule biosynthetic process, regulation of cellular biosynthetic process, regulation of macromolecule biosynthetic process	0.96	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0006355	regulation of transcription, DNA-templated	Biological Process	GO:0010468, GO:0006351, GO:1903506, GO:2000112	regulation of gene expression, transcription, DNA-templated, regulation of nucleic acid-templated transcription, regulation of cellular macromolecule biosynthetic process	1	1	TR13837 c0_g1_i1
6	GO:0019318	hexose metabolic process	Biological Process	GO:0005996	monosaccharide metabolic process	0.72	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
6	GO:0046394	carboxylic acid biosynthetic process	Biological Process	GO:0016053, GO:0019752	organic acid biosynthetic process, carboxylic acid metabolic process	0.13	1	TR33858 c0_g1_i1
6	GO:0010608	posttranscriptional regulation of gene expression	Biological Process	GO:0010468	regulation of gene expression	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0001676	long-chain fatty acid metabolic process	Biological Process	GO:0006631	fatty acid metabolic process	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
6	GO:0002119	nematode larval development	Biological Process	GO:0002164	larval development	1	1	TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0006351	transcription, DNA-templated	Biological Process	GO:0010467, GO:0034645, GO:0097659	gene expression, cellular macromolecule biosynthetic process, nucleic acid-templated transcription	0.6	1	TR13837 c0_g1_i1
6	GO:0009792	embryo development ending in birth or egg hatching	Biological Process	GO:0009790	embryo development	1	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0006412	translation	Biological Process	GO:0010467, GO:0034645, GO:0044267, GO:0043043	gene expression, cellular macromolecule biosynthetic process, cellular protein metabolic process, peptide biosynthetic process	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0043043	peptide biosynthetic process	Biological Process	GO:0043604, GO:1901566, GO:0006518	amide biosynthetic process, organonitrogen compound biosynthetic process, peptide metabolic process	0.22	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0006633	fatty acid biosynthetic process	Biological Process	GO:0008610, GO:0072330, GO:0006631	lipid biosynthetic process, monocarboxylic acid biosynthetic process, fatty acid metabolic process	0.13	1	TR33858 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0006414	translational elongation	Biological Process	GO:0034645, GO:0006412	cellular macromolecule biosynthetic process, translation	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0006417	regulation of translation	Biological Process	GO:0034248, GO:0032268, GO:2000112, GO:0010608, GO:0006412	regulation of cellular amide metabolic process, regulation of cellular protein metabolic process, regulation of cellular macromolecule biosynthetic process, posttranscriptional regulation of gene expression, translation	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0043604	amide biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:0043603	cellular nitrogen compound biosynthetic process, cellular amide metabolic process	0.13	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0009069	serine family amino acid metabolic process	Biological Process	GO:1901605	alpha-amino acid metabolic process	1	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	Biological Process	GO:0043436	oxoacid metabolic process	0.58	1	TR33858 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
7	GO:0019369	arachidonic acid metabolic process	Biological Process	GO:0001676, GO:0006690, GO:0033559	long-chain fatty acid metabolic process, icosanoid metabolic process, unsaturated fatty acid metabolic process	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0006692	prostanoid metabolic process	Biological Process	GO:0006690, GO:0033559	icosanoid metabolic process, unsaturated fatty acid metabolic process	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0006691	leukotriene metabolic process	Biological Process	GO:0006690, GO:0033559	icosanoid metabolic process, unsaturated fatty acid metabolic process	1	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0006690	icosanoid metabolic process	Biological Process	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	0.96	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0032787	monocarboxylic acid metabolic process	Biological Process	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	0.35	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0006448	regulation of translational elongation	Biological Process	GO:0006414, GO:0006417	translational elongation, regulation of translation	1	1	TR4161 c0_g1_i1
7	GO:0006006	glucose metabolic process	Biological Process	GO:0019318	hexose metabolic process	1.2	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
7	GO:1903506	regulation of nucleic acid-templated transcription	Biological Process	GO:0097659, GO:2001141	nucleic acid-templated transcription, regulation of RNA biosynthetic process	0.6	1	TR13837 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
7	GO:0006468	protein phosphorylation	Biological Process	GO:0016310, GO:0006464	phosphorylation, cellular protein modification process	1	1	TR60392 c0_g1_i1
7	GO:0097659	nucleic acid-templated transcription	Biological Process	GO:0032774	RNA biosynthetic process	0.36	1	TR13837 c0_g1_i1
7	GO:0019319	hexose biosynthetic process	Biological Process	GO:0019318, GO:0046364	hexose metabolic process, monosaccharide biosynthetic process	1.2	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
7	GO:0006636	unsaturated fatty acid biosynthetic process	Biological Process	GO:0006633, GO:0033559	fatty acid biosynthetic process, unsaturated fatty acid metabolic process	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0072330	monocarboxylic acid biosynthetic process	Biological Process	GO:0032787, GO:0046394	monocarboxylic acid metabolic process, carboxylic acid biosynthetic process	0.08	1	TR33858 c0_g1_i1
7	GO:0046456	icosanoid biosynthetic process	Biological Process	GO:0006690, GO:0046394	icosanoid metabolic process, carboxylic acid biosynthetic process	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-8 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
8	GO:0046457	prostanoid biosynthetic process	Biological Process	GO:0006636, GO:0046456, GO:0006692	unsaturated fatty acid biosynthetic process, icosanoid biosynthetic process, prostanoid metabolic process	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
8	GO:0019371	cyclooxygenase pathway	Biological Process	GO:0019369, GO:0001516	arachidonic acid metabolic process, prostaglandin biosynthetic process	1	1	TR33858 c0_g1_i1
8	GO:0006094	gluconeogenesis	Biological Process	GO:0019319, GO:0006006	hexose biosynthetic process, glucose metabolic process	2	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
8	GO:0006693	prostaglandin metabolic process	Biological Process	GO:0006692	prostanoid metabolic process	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
9	GO:0001516	prostaglandin biosynthetic process	Biological Process	GO:0006693, GO:0046457	prostaglandin metabolic process, prostanoid biosynthetic process	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1



**ตารางที่ 3-9** gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0003674	molecular_function	Molecular Function			2.49	7	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
2	GO:0003824	catalytic activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	2.02	6	TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
2	GO:0005488	binding	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	1.16	7	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
2	GO:0016209	antioxidant activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
2	GO:0001071	nucleic acid binding transcription factor activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.6	1	TR13837 c0_g1_i1
3	GO:0097367	carbohydrate derivative binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.52	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:1901363	heterocyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.57	6	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1

**ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0016829	lyase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.43	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
3	GO:0003700	transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	Molecular Function	GO:0001071	nucleic acid binding transcription factor activity	1	1	TR13837 c0_g1_i1
3	GO:0043167	ion binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.36	1	TR61286 c3_g5_i1
3	GO:0016491	oxidoreductase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	2.72	2	TR33858 c0_g1_i1, TR61286 c3_g5_i1
3	GO:0016787	hydrolase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.08	1	TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0016740	transferase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.13	1	TR60392 c0_g1_i1
3	GO:0036094	small molecule binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.52	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0004601	peroxidase activity	Molecular Function	GO:0016209, GO:0016684	antioxidant activity, oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor	1	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0097159	organic cyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.57	6	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0001882	nucleoside binding	Molecular Function	GO:0097367, GO:0036094, GO:1901363, GO:0097159	carbohydrate derivative binding, small molecule binding, heterocyclic compound binding, organic cyclic compound binding	0.86	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0003676	nucleic acid binding	Molecular Function	GO:1901363, GO:0097159	heterocyclic compound binding, organic cyclic compound binding	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0016830	carbon-carbon lyase activity	Molecular Function	GO:0016829	lyase activity	0.72	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
4	GO:0016705	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen	Molecular Function	GO:0016491	oxidoreductase activity	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:1901265	nucleoside phosphate binding	Molecular Function	GO:1901363, GO:0097159	heterocyclic compound binding, organic cyclic compound binding	1.44	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0016772	transferase activity, transferring phosphorus- containing groups	Molecular Function	GO:0016740	transferase activity	0.22	1	TR60392 c0_g1_i1
4	GO:0046906	tetrapyrrole binding	Molecular Function	GO:1901363, GO:0097159	heterocyclic compound binding, organic cyclic compound binding	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0016817	hydrolase activity, acting on acid anhydrides	Molecular Function	GO:0016787	hydrolase activity	0.13	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0043169	cation binding	Molecular Function	GO:0043167	ion binding	0.6	1	TR6128 c3_g5_i1
4	GO:0000166	nucleotide binding	Molecular Function	GO:0036094, GO:1901265	small molecule binding, nucleoside phosphate binding	0.52	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0032553	ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0000166, GO:0097367	nucleotide binding, carbohydrate derivative binding	0.86	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0016684	oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor	Molecular Function	GO:0016491	oxidoreductase activity	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0046872	metal ion binding	Molecular Function	GO:0043169	cation binding	1	1	TR61286 c3_g5_i1
5	GO:0003677	DNA binding	Molecular Function	GO:0003676	nucleic acid binding	0.6	1	TR13837 c0_g1_i1
5	GO:0016301	kinase activity	Molecular Function	GO:0016772	transferase activity, transferring phosphorus- containing groups	0.36	1	TR60392 c0_g1_i1
5	GO:0017076	purine nucleotide binding	Molecular Function	GO:0000166	nucleotide binding	0.86	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0001883	purine nucleoside binding	Molecular Function	GO:0001882	nucleoside binding	1.44	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	Molecular Function	GO:0016772	transferase activity, transferring phosphorus- containing groups	0.36	1	TR60392 c0_g1_i1
5	GO:0003723	RNA binding	Molecular Function	GO:0003676	nucleic acid binding	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0016831	carboxy-lyase activity	Molecular Function	GO:0016830	carbon-carbon lyase activity	1.2	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0032555	purine ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0032553, GO:0017076	ribonucleotide binding, purine nucleotide binding	1.44	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0020037	heme binding	Molecular Function	GO:0046906	tetrapyrrole binding	1	1	TR33858 c0_g1_i1
5	GO:0016818	hydrolase activity, acting on acid anhydrides, in phosphorus-containing anhydrides	Molecular Function	GO:0016817	hydrolase activity, acting on acid anhydrides	0.22	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0032549	ribonucleoside binding	Molecular Function	GO:0001882	nucleoside binding	1.44	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0035659	purine ribonucleoside triphosphate binding	Molecular Function	GO:1901265	nucleoside phosphate binding	2.4	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0004666	prostaglandin-endoperoxide synthase activity	Molecular Function	GO:0016705	oxidoreductase activity, acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen	1	1	TR33858 c0_g1_i1
6	GO:0004672	protein kinase activity	Molecular Function	GO:0016301, GO:0016773	kinase activity, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0.6	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:0030554	adenyl nucleotide binding	Molecular Function	GO:0017076	purine nucleotide binding	0.36	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:0043565	sequence-specific DNA binding	Molecular Function	GO:0003677	DNA binding	1	1	TR13837 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0005525	GTP binding	Molecular Function	GO:0032550, GO:0035639, GO:0032561	purine ribonucleoside binding, purine ribonucleoside triphosphate binding, guanyl ribonucleotide binding	3	3	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0032550	purine ribonucleoside binding	Molecular Function	GO:0032549, GO:0001883	ribonucleoside binding, purine nucleoside binding	2.4	4	TR9688 c0_g1_i1, TR60392 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0008135	translation factor activity, RNA binding	Molecular Function	GO:0003723	RNA binding	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0032559	adenyl ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0030554, GO:0032555	adenyl nucleotide binding, purine ribonucleotide binding	0.6	1	TR60392 c0_g1_i1
6	GO:0019001	guanyl nucleotide binding	Molecular Function	GO:0017076	purine nucleotide binding	1.08	3	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0005524	ATP binding	Molecular Function	GO:0032550, GO:0032559, GO:0035639	purine ribonucleoside binding, adenylyl ribonucleotide binding, purine ribonucleoside triphosphate binding	1	1	TR60392 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-9 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0016462	pyrophosphatase activity	Molecular Function	GO:0016818	hydrolase activity, acting on acid anhydrides, in phosphorus-containing anhydrides	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
6	GO:0004611	phosphoenolpyruvate carboxykinase activity	Molecular Function	GO:0016831	carboxy-lyase activity	2	2	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1
6	GO:0032561	guanyl ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0019001, GO:0032555	guanyl nucleotide binding, purine ribonucleotide binding	1.8	3	TR9688 c0_g1_i1, TR11428 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
7	GO:0003746	translation elongation factor activity	Molecular Function	GO:0008135	translation factor activity, RNA binding	1	1	TR4161 c0_g1_i1
7	GO:0017111	nucleoside-triphosphatase activity	Molecular Function	GO:0016462	pyrophosphatase activity	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
7	GO:0004674	protein serine/threonine kinase activity	Molecular Function	GO:0004672	protein kinase activity	1	1	TR60392 c0_g1_i1
8	GO:0003924	GTPase activity	Molecular Function	GO:0017111	nucleoside-triphosphatase activity	1	1	TR4161 c0_g1_i1

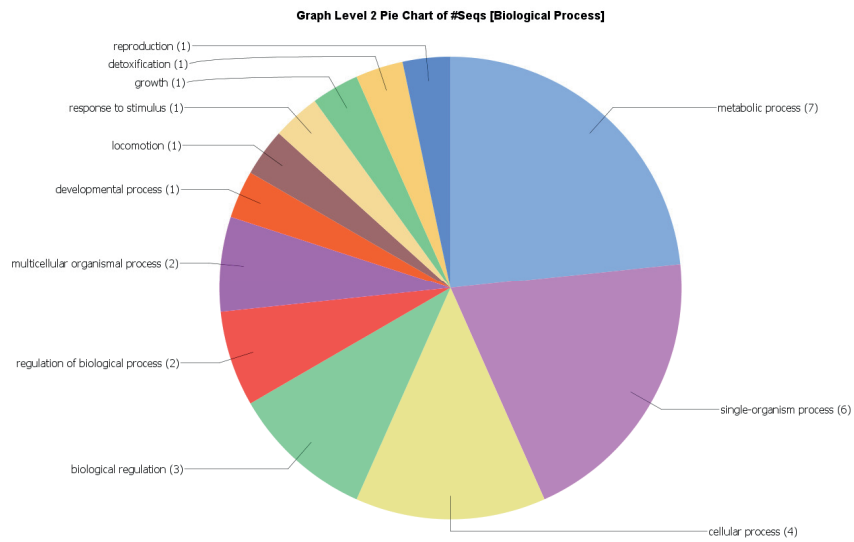
ตารางที่ 3-10 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0005575	cellular_component	Cellular Component			1.16	4	TR13837 c0_g1_i1, TR33858 c0_g1_i1, TR13668 c1_g2_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0044425	membrane part	Cellular Component	GO:0016020, GO:0005575	membrane, cellular_component	0.36	1	TR33858 c0_g1_i1
2	GO:0043226	organelle	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.22	1	TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0016020	membrane	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.22	1	TR33858 c0_g1_i1
2	GO:0005623	cell	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.35	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0032991	macromolecular complex	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
2	GO:0005576	extracellular region	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	1	1	TR13668 c1_g2_i1
2	GO:0044464	cell part	Cellular Component	GO:0005623, GO:0005575	cell, cellular_component	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0043228	non-membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
3	GO:1990904	ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0043234	protein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	0.6	1	TR13837 c0_g1_i1
3	GO:0044424	intracellular part	Cellular Component	GO:0005622, GO:0044464	intracellular, cell part	0.96	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1
3	GO:0031224	intrinsic component of membrane	Cellular Component	GO:0044425	membrane part	0.6	1	TR33858 c0_g1_i1
3	GO:0005622	intracellular	Cellular Component	GO:0044464	cell part	0.58	2	TR13837 c0_g1_i1, TR4161 c0_g1_i1

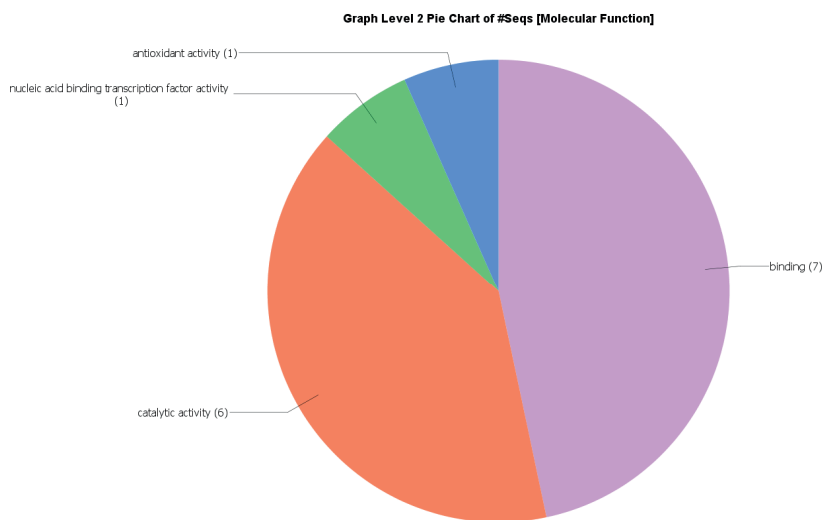


ตารางที่ 3-10 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 1/2

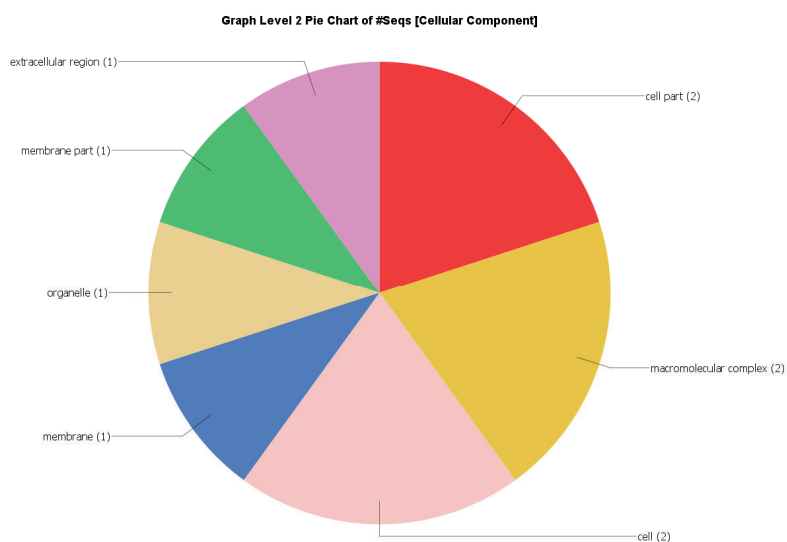
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0043229	intracellular organelle	Cellular Component	GO:0043226, GO:0044424	organelle, intracellular part	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0044444	cytoplasmic part	Cellular Component	GO:0005737, GO:0044424	cytoplasm, intracellular part	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0005737	cytoplasm	Cellular Component	GO:0044424	intracellular part	0.36	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0005667	transcription factor complex	Cellular Component	GO:0043234, GO:0044424	protein complex, intracellular part	1	1	TR13837 c0_g1_i1
4	GO:0030529	intracellular ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:1990904, GO:0044424	ribonucleoprotein complex, intracellular part	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
4	GO:0016021	integral component of membrane	Cellular Component	GO:0031224	intrinsic component of membrane	1	1	TR33858 c0_g1_i1
4	GO:0043232	intracellular non-membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043228, GO:0043229	non-membrane-bounded organelle, intracellular organelle	0.6	1	TR4161 c0_g1_i1
5	GO:0005840	ribosome	Cellular Component	GO:0030529, GO:0044444, GO:0043232	intracellular ribonucleoprotein complex, cytoplasmic part, intracellular non-membrane-bounded organelle	1	1	TR4161 c0_g1_i1



ภาพที่ 3-5 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 1/2



ภาพที่ 3-6 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 1/2



ภาพที่ 3-7 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular function ในกลุ่มที่ 1/2

### Pathway analysis

ในกลุ่มที่ 1/2 พบ enzyme pathway จำนวน 4 pathway จาก 2 transcriptsประกอบไปด้วย Arachidonic acid metabolism, Phenylpropanoid biosynthesis, Thiamine metabolism และ Purine metabolism ดังตารางที่ 3-11

ตารางที่ 3-11 pathway ในกลุ่มที่ 1/2

Seq	Pathway	Pathway ID	#Enzs in Pathway	Enzyme
TR33858 c0_g1_i1	Arachidonic acid metabolism, Phenylpropanoid biosynthesis	map00590, map00940	1, 1	ec:1.14.99.1 - synthase, ec:1.11.1.7 - lactoperoxidase
TR4161 c0_g1_j1	Thiamine metabolism, Purine metabolism	map00730, map00230	1, 1	ec:3.6.1.15 - phosphatase, ec:3.6.1.15 - phosphatase







### 3.2.3 กลุ่มที่ 2/1 มีลักษณะการแสดงออกลดลง

มีทั้งหมด 135 transcripts มีลักษณะการแสดงออกลดลงเมื่อได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ (hc0\_a ในภาพที่ 3-1) สามารถระบุชื่อยีนจากฐานข้อมูล blastx ได้ทั้งหมด 34 transcripts และนำไปอธิบายถึงหน้าที่ของยีนได้ทั้งหมด 13 transcripts จาก 34 transcripts ที่สามารถระบุชื่อยีนได้ ดังตารางที่ 3-12 โดยการนำเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลออนไลน์ GO โดยในแต่ละ transcript จะเป็นส่วนของ biological process, molecular function และ cellular component ดังตารางที่ 3-13 โดยมีการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ดังตารางที่ 3-14, 3-15 และ 3-16 สามารถสรุปองค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ตามระดับที่ 2 (level 2) ของการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ได้ดังนี้

biological process มีทั้งหมด 10 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่มีความเกี่ยวข้องกับ cellular process จำนวน 6 transcripts และ single-organism process จำนวน 6 transcripts และ อื่นๆ อีก 8 ส่วนประกอบ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-12

molecular function มีทั้งหมด 4 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็น binding จำนวน 8 transcripts, catalytic activity จำนวน 4 transcripts และส่วนอื่นๆซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-13

cellular component มีทั้งหมด 9 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็นส่วนของ extracellular region จำนวน 5 transcripts และส่วนอื่นๆ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-14

ตารางที่ 3-12 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR11354 c0_g1_i1	tyrosine decarboxylase	540	20	1.02E-63	84.35	3	F:GO:0030170; P:GO:0006520; F:GO:0016831	F:pyridoxal phosphate binding; P:cellular amino acid metabolic process; F:carboxy-lyase activity			IPR010977 (PRINTS); G3DSA:1.20.1340.10 (GENE3D); IPR015421 (G3DSA:3.40.640.GENE3D); IPR002129 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR11999 (PANTHER); PTHR11999:SF131 (PANTHER); IPR015424 (SUPERFAMILY)	F:GO:0030170; F:GO:0003824; P:GO:0006520; P:GO:0019752; F:GO:0016831	F:pyridoxal phosphate binding; F:catalytic activity; P:cellular amino acid metabolic process; P:carboxylic acid metabolic process; F:carboxy-lyase activity
TR42640 c0_g1_i1	crustacean hyperglycemic hormone	540	20	4.34E-53	67.3	3	P:GO:0007218; F:GO:0005184; C:GO:0005576	P:neuropeptide signaling pathway; F:neuropeptide hormone activity; C:extracellular region			IPR000346 (PRINTS); IPR001166 (PRINTS); IPR031098 (G3DSA:1.10.2010.GENE3D); IPR031098 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR35981:SF3 (PANTHER); PTHR35981 (PANTHER); IPR031098 (SUPERFAMILY)	F:GO:0005184; C:GO:0005576	F:neuropeptide hormone activity; C:extracellular region
TR58893 c0_g9_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR34515 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms



ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR61514 c2_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR807 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR43683 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR43199 c1_g1_i1	Collagen alpha-1(IV) chain	540	19	9.21E-11	73.84	1	C:GO:0005581	C:collagen trimer			mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR3815 c0_g1_i1	---NA---	533									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR10529 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR31322 c0_g2_i1	5-aminolevulinat e erythroid-mitochondrial	540	20	1.31E-51	69	8	F:GO:0030170 ; P:GO:0042967 ; C:GO:0005759 ; P:GO:0006563 ; P:GO:0006783 ; F:GO:0003870 ; P:GO:0006544 ; P:GO:0006566	F:pyridoxal phosphate binding; P:acyl-carrier-protein biosynthetic process; C:mitochondrial matrix; P:L-serine metabolic process; P:heme biosynthetic process; F:5-aminolevulinate synthase activity; P:glycine metabolic process; P:threonine metabolic process	EC:2.3.1.37 ; EC:2.3.1	5-aminolevulinate synthase; Acyltransferases	IPR015118 (PFAM); PTHR13693:SF66 (PANTHER); PTHR13693 (PANTHER)	F:GO:0030170; P:GO:0006778; C:GO:0005759; F:GO:0003870	F:pyridoxal phosphate binding; P:porphyrin-containing compound metabolic process; C:mitochondrial matrix; F:5-aminolevulinate synthase activity
TR8439 c0_g1_i1	---NA---	436									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR20282 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR20474 c3_g1_i1	---NA---	417									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR21071 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR12158 c0_g1_i1	---NA---	449									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR63074 c0_g8_l1	---NA---	423									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR30386 c0_g1_l1	---NA---	426									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR61509 c0_g1_l1	---NA---	458									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR31322 c0_g1_l1	5-aminolevulinat e erythroid- mitochondrial	540	20	1.31E-51	69	8	F:GO:00030170 ; P:GO:0042967 ; C:GO:0005759 ; P:GO:0006563 ; P:GO:0006783 ; F:GO:0003870 ; P:GO:0006544 ; P:GO:0006566	F:pyridoxal phosphate binding; P:acyl-carrier-protein biosynthetic process; C:mitochondrial matrix; P:L-serine metabolic process; P:heme biosynthetic process; F:5-aminolevulinate synthase activity; P:glycine metabolic process; P:threonine metabolic process	EC:2.3.1.37 ; EC:2.3.1	5-aminolevulinat synthase; Acyltransferases	no IPS match no IPS match no IPS match IPR015118 (PFAM); PTHR13693:SF66 (PANTHER); PTHR13693 (PANTHER)	no IPS match no IPS match no IPS match P:GO:0006778; F:GO:00030170; C:GO:0005759; F:GO:0003870	no IPS match no IPS match no IPS match Pporphyrin-containing compound metabolic process; F:pyridoxal phosphate binding; C:mitochondria l matrix; F:5-aminolevulinat e synthase activity
TR60509 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR31669 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR33611 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR1689 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR55236 c1_g2_l1	---NA---	489									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR18543 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR59079 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR22347 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR57388 c0_g1_l1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE) no IPS match	no GO terms no IPS match	no GO terms no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR10457 c0_g2_l1	---NA---	369									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR53805 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR4908 c0_g1_l1	---NA---	432									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR6097 c0_g1_l1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR54470 c0_g1_l1	bumetanide-sensitive sodium-(potassium)-chloride cotransporter isoform X1	540	20	1.16E-73	71.45	2	P:GO:0055085 ; C:GO:0016020	P:transmembrane transport; C:membrane			IPR004841 (PFAM); PTHR11827-SF86 (PANTHER); PTHR11827 (PANTHER)	P:GO:0055085; C:GO:0016020; P:GO:0006810	P:transmembrane transport; C:membrane; P:transport
TR40749 c1_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR33869 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR52696 c0_g1_l1	RNA-directed DNA polymerase from mobile element jockey-like	493	20	5.22E-08	54.25	3	F:GO:0003964 ; F:GO:0003723 ; P:GO:0006278	F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA biosynthetic process			no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR26236 c0_g6_l1	---NA---	401									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR32933 c0_g1_l1	deoxynucleoside de triphosphate triphosphohydrolase SAMHD1-like	256	20	6.03E-12	71.65						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR49751 c0_g1_l1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR29456 c0_g1_i1	---NA---	432									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR28664 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR21585 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR16077 c0_g1_i1	venom toxin	341	20	1.67E-14	56.2	3	C:GO:0016942 ; P:GO:0001558 ; F:GO:0005520	C:insulin-like growth factor binding protein complex; P:regulation of cell growth; F:insulin-like growth factor binding			IPR000867 (SMART); IPR000867 (PANTHER); PTHR14186:SF26 (PANTHER); IPR000867 (PROSITE_PROFILES); IPR009030 (SUPERFAMILY)	P:GO:0001558; C:GO:0005576; F:GO:0005520	Pregulation of cell growth; C:extracellular region; F:insulin-like growth factor binding
TR19847 c0_g2_i1	---NA---	344									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR25556 c0_g1_i1	---NA---	321									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR38020 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR37624 c0_g1_i1	PREDICTED: uncharacterized protein	540	1	6.80E-06	70						mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR57049 c1_g2_i1	LOC108668307 ---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR8464tc0_g1_11	cyclooxygenase	540	13	3.69E-06	86	12	F:GO:0004601 ; P:GO:0006979 ; F:GO:0004666 ; P:GO:0019371 ; F:GO:0016491 ; P:GO:0001516 ; C:GO:0016020 ; C:GO:0016021 ; P:GO:0098869 ; P:GO:0055114 ; P:GO:0008217 ; F:GO:0020037	F:peroxidase activity; P:response to oxidative stress; F:prostaglandin-endoperoxide synthase activity; P:cyclooxygenase pathway; F:oxidoreductase activity; P:prostaglandin biosynthetic process; C:membrane; C:integral component of membrane; P:cellular oxidant detoxification; P:oxidation-reduction process; P:regulation of blood pressure; F:heme binding		no IPS match	no IPS match	no IPS match	no IPS match

### ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR12714 c0_g1_i1	programmed cell death 5	540	20	5.74E-26	72.15	1	F:GO:0003677	F:DNA binding			IPR002836 (G3DSA:1.10.8.GENE3D); IPR002836 (PFAM); IPR002836 (PIRSF); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); IPR002836 (PANTHER); IPR002836 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003677	F:DNA binding
TR49559 c1_g2_i1	hypothetical protein g:750, partial	334	1	4.68E-05	60						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR25714 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR63119 c63_g1_i1	RNA-directed DNA Non LTR Retrotransposon	350	4	4.53E-04	59.25	4	F:GO:0003964 ; F:GO:0016779 ; P:GO:0006278 ; F:GO:0016740	F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:nucleotidyltransferase activity; P:RNA-dependent DNA biosynthetic process; F:transferase activity			no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR1221 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR10256 c0_g1_i1	craniofacial development 2-like	540	20	1.85E-16	65.6						IPR005135 (G3DSA:3.60.10.GENE3D)	no GO terms	no GO terms
TR25808 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR11265 c0_g1_i1	PBDC1	540	20	1.28E-61	80.55						IPR021148 (PFAM); IPR023139 (G3DSA:1.10.3560.GENE3D); IPR008476 (PANTHER)	no GO terms	no GO terms
TR39480 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR44497 c0_g2_i1	---NA---	321									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR60949 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR44975 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR54600 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR16717 c0_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR53896 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR15748 c0_g1_i1	carbonic anhydrase	540	20	2.38E-16	53.7	5	F:GO:0008270 ; F:GO:0046872 ; F:GO:0016829 ; F:GO:0004089 ; P:GO:0006730	F:zinc ion binding; F:metal ion binding; F:lyase activity; F:carbonate dehydratase activity; P:one-carbon metabolic process			IPR001148 (PFAM); IPR001148 (G3DSA:3.10.200.GENE3D); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR18952:SF130 (PANTHER); IPR023561 (PANTHER); IPR001148 (PROSITE_PROFILES); IPR001148 (SUPERFAMILY)	no GO terms	no GO terms
TR49465 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR234 c0_g1_i1	---NA---	540									PS51257 (PROSITE_PROFILES)	no GO terms	no GO terms
TR8618 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR29865 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match





ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR18975 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR49249 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR22598 c0_g1_i1	thyroid hormone receptor- associated complex	540	20	2.39E-48	62.1	3	C:GO:0005634 ; P:GO:0016573 ; C:GO:000123	C:nucleus; P:histone acetylation; Chistone acetyltransferase complex			mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR22598 c0_g1_i2	Myosin light chain smooth	540	20	1.73E-60	61.85	3	C:GO:0005634 ; P:GO:0016573 ; C:GO:000123	C:nucleus; P:histone acetylation; Chistone acetyltransferase complex			mobidb-lite (MOBIDB_LITE); mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR46759 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR52975 c0_g1_i1	low-density lipo receptor	540	20	7.33E-43	59.8	3	F:GO:0005515 ; F:GO:0030229 ; P:GO:0007165	F:protein binding; F:very-low-density lipoprotein particle receptor activity; P:signal transduction			IPR002172 (PRINTS); IPR002172 (SMART); IPR002172 (G3DSA:4.10.400.GENE3D); IPR002172 (PFAM); IPR002172 (G3DSA:4.10.400.GENE3D); PTHR10529 (PANTHER); IPR032931 (PTHR10529:PANTHER); IPR002172 (PROSITE_PROFILES); IPR002172 (PROSITE_PROFILES); PS51257 (PROSITE_PROFILES); IPR002172 (PROSITE_PROFILES); cd00112 (CDD); cd00112 (CDD); cd00112 (CDD); IPR002172 (SUPERFAMILY); IPR002172 (SUPERFAMILY); IPR002172 (SUPERFAMILY)	F:GO:0005515; F:GO:0030229	F:protein binding; F:very-low-density lipoprotein particle receptor activity
TR19764 c1_g5_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR3854 c1_g14_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR13542 c0_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR26247 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR32916 c0_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR20066 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR52967 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR14435 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR20311 c1_g4_i1	hypothetical protein	352	2	6.83E-14	47						no IPS match	no IPS match	no IPS match
	XENTR_v90023												
	025mg												
TR20311 c1_g4_i2	PREDICTED: uncharacterize d protein	540	2	6.59E-27	50.5						mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
	LOC105948515												
TR7514 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR25175 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR59761 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR54577 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR3792 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR6156 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR6555 c0_g1_i1	PREDICTED: uncharacterize d protein	540	20	8.90E-39	62.1						no IPS match	no IPS match	no IPS match
	LOC106131883												
	isoform X1												

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR31328 c0_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR52225 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR44474 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR2091 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR44696 c0_g1_i1	dual oxidase 2-like	467	2	2.99E-04	89.5						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR1538 c0_g1_i1	RNA-directed DNA polymerase from mobile element jockey-like	482	20	2.86E-19	51.75	3	P:GO:0090502 ; F:GO:0003676 ; F:GO:0004523	P:RNA phosphodiester bond hydrolysis, endonucleolytic; F:nucleic acid binding; F:RNA-DNA hybrid ribonuclease activity			no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR50425 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR35740 c4_g1_i1	---NA---	439									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR5355 c0_g2_i1	---NA---	511									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR41971 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR33438 c0_g1_i1	crustin antimicrobial peptide	540	20	1.20E-08	50	2	F:GO:0030414 ; C:GO:0005576	F:peptidase inhibitor activity; C:extracellular region			IPR008197 (G3DSA:4.10.75.GENE3D); IPR008197 (PROSITE_PROFILES); IPR008197 (SUPERFAMILY)	F:GO:0030414; C:GO:0005576	F:peptidase inhibitor activity; C:extracellular region

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR33438 c0_g1_i2	crustin-like peptide type	540	20	2.33E-09	49.1	2	F:GO:0030414 ; C:GO:0005576	F:peptidase inhibitor activity; C:extracellular region			IPR008197 (PRINTS); IPR008197 (SMART); IPR008197 (G3DSA:4.10.75.GENE3D); IPR008197 (PFAM); IPR008197 (PROSITE_PROFILES); IPR008197 (SUPERFAMILY)	F:GO:0030414; C:GO:0005576	F:peptidase inhibitor activity; C:extracellular region
TR22591 c1_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR2010 c0_g2_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR50970 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR35711 c2_g15_i1	homeobox 2-like	540	4	2.65E-07	50.25						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR59223 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR63138 c0_g1_i1	70 kDa heat shock	540	20	2.70E-74	80.05	1	F:GO:0005524	F:ATP binding			G3DSA:3.30.420.40 (GENE3D); G3DSA:3.30.420.40 (GENE3D); IPR013126 (PFAM); G3DSA:3.90.640.10 (GENE3D); PTHR19375 (PANTHER); PTHR19375:SF258 (PANTHER); SSF53067 (SUPERFAMILY); SSF53067 (SUPERFAMILY)	no GO terms	no GO terms

ตารางที่ 3-12 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR38097 c0_g1_i1	Ovalbumin-related Y	540	20	9.69E-30	54.55	1	C:GO:0005615	C:extracellular space			G3DSA:2.30.39.10 (GENE3D); IPR023796 (PFAM); G3DSA:3.30.497.10 (GENE3D); PTHR11461:SF242 (PANTHER); IPR000215 (PANTHER); IPR023796 (SUPERFAMILY)	C:GO:0005615	C:extracellular space
TR60473 c0_g1_i1	NIP3 homolog isoform X2	540	6	1.27E-06	89.33						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR47123 c0_g1_i1	---NA---	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR4015 c0_g1_i1	---NA---	435									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms
TR19778 c1_g3_i1	cryptochrome-1-like isoform X2	540	20	1.40E-63	78.5	1	F:GO:0016829	F:lyase activity			no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-13 หน้าที่ย่อยใน กลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR42640 c0_g1_i1	crustacean hyperglycemic hormone	cellular process, single-organism process, regulation of biological process, biological regulation, signaling, response to stimulus	neuropeptide signaling pathway, signal transduction	binding	protein binding (neuropeptide hormone activity)	extracellular region	extracellular region
TR31322 c0_g1_i1	5-aminolevulinic erythroid-mitochondrial	metabolic process, cellular process, single-organism process	cellular amino acid metabolic process (threonine matabolic process, glycine metabolic process, L-serine metabolic process), heme biosynthetic process, acyl-carrier-protein biosynthetic process	binding, catalytic activity	pyridoxol phosphate binding, 5-aminolevulinic synthase activity	membrane-enclosed lumen, cell part, cell, organelle part, organelle	mitochondrial matrix
TR16077 c0_g1_i1	venom toxin	growth, cellular component, cellular process, single-organism process, regulation of biological process, biological regulation	regulation of cell growth	binding	protein binding (insulin-like growth factor binding)	macromolecular complex, extracellular region part, extracellular region	extracellular space (insulin-like growth factor binding protein complex)

ตารางที่ 3-13 (ต่อ) หน้าที่ยังอยู่ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	biological process (level 2)	localization	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR54470 c0_g1_i1	bumetanide-sensitive sodium-(potassium)-chloride cotransporter isoform X1	metabolic process, cellular process, single-organism process	localization	transmembrane transport	binding, catalytic activity	lyase activity (carboxy-lyase activity)	membrane	cellular component
TR11354 c0_g1_i1	tyrosine decarboxylase	metabolic process, cellular process, single-organism process	metabolic process, cellular process, single-organism process	cellular amino acid metabolic process	binding, catalytic activity	pyridoxol phosphate binding, 5-aminolevulinate synthase activity	membrane-enclosed lumen, cell part, cell organelle part, organelle	mitochondrial matrix
TR31322 c0_g2_i1	5-aminolevulinate erythroid-mitochondrial	metabolic process, cellular process, single-organism process	metabolic process, cellular process, single-organism process	cellular amino acid metabolic process (threonine metabolic process, glycine metabolic process, L-serine metabolic process), heme biosynthetic process, acyl-carrier protein biosynthetic process	binding, catalytic activity	pyridoxol phosphate binding, 5-aminolevulinate synthase activity	membrane-enclosed lumen, cell part, cell organelle part, organelle	mitochondrial matrix



ตารางที่ 3-13 (ต่อ) หน้าแรกของยีน ในกลุ่มที่ 2/1

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR52975 c0_g1_i1	low-density lipoprotein receptor	cellular process, single-organism process, regulation of biological process, biological regulation, signaling, response to stimulus	signal transduction	binding	very-low-density lipoprotein, protein binding		cellular component
TR63138 c0_g1_i1	70 kDa heat shock protein			binding	ATP binding		
TR33438 c0_g1_i2	crustinin-like peptide type			molecular function regulator	peptidase inhibitor activity	extracellular region	extracellular region
TR33438 c0_g1_i1	crustinin antimicrobial peptide			molecular function regulator	peptidase inhibitor activity	extracellular region	extracellular region
TR19778 c1_g3_i1	cryptochrome-1-like isoform X2			catalytic activity	lyase activity		
TR12714 c0_g1_i1	programmed cell death 5			binding	DNA binding		
TR38097 c0_g1_i1	Ovalbumin-related Y					extracellular region part, extracellular region	extracellular space

ตารางที่ 3-14 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0008150	biological_process	Biological Process			2.7	7	TR42640 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR54470 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0009987	cellular process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	2.46	6	TR42640 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0040007	growth	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.36	1	TR16077 c0_g1_i1
2	GO:0008152	metabolic process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	3.07	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0050896	response to stimulus	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.85	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0071840	cellular component organization or biogenesis	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.22	1	TR16077 c0_g1_i1
2	GO:0044699	single-organism process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	2.2	6	TR42640 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0051179	localization	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.22	1	TR54470 c0_g1_i1
2	GO:0023052	signaling	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.85	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0050789	regulation of biological process	Biological Process	GO:0065007, GO:0008150	biological regulation, biological_process	1.21	3	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0065007	biological regulation	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.73	3	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0071704	organic substance metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	2.79	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0044700	single-organism signaling	Biological Process	GO:0044699, GO:0023052	single-organism process, signaling	1.42	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
3	GO:0009058	biosynthetic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	1.15	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0016043	cellular component organization	Biological Process	GO:0009987, GO:0071840	cellular process, cellular component organization or biogenesis	0.36	1	TR16077 c0_g1_i1
3	GO:0051234	establishment of localization	Biological Process	GO:0051179	localization	0.36	1	TR54470 c0_g1_i1
3	GO:0044763	single-organism cellular process	Biological Process	GO:0009987, GO:0044699	cellular process, single-organism process	3.1	6	TR42640 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR52975 c0_g1_i1
3	GO:0044710	single-organism metabolic process	Biological Process	GO:0008152, GO:0044699	metabolic process, single-organism process	1.42	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0040008	regulation of growth	Biological Process	GO:0050789, GO:0040007	regulation of biological process, growth	0.6	1	TR16077 c0_g1_i1
3	GO:0006807	nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	2.53	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0051716	cellular response to stimulus	Biological Process	GO:0009987, GO:0050896	cellular process, response to stimulus	1.42	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0044237	cellular metabolic process	Biological Process	GO:0009987, GO:0008152	cellular process, metabolic process	1.86	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0016049	cell growth	Biological Process	GO:0040007, GO:0044763	growth, single- organism cellular process	0.6	1	TR16077 c0_g1_i1
3	GO:0050794	regulation of cellular process	Biological Process	GO:0009987, GO:0050789	cellular process, regulation of biological process	1.78	3	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
3	GO:0044238	primary metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	3.96	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0042168	heme metabolic process	Biological Process	GO:0006778, GO:0042440, GO:0044763	porphyrin-containing compound metabolic process, pigment metabolic process, single-organism cellular process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0006725	cellular aromatic compound metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0006520	cellular amino acid metabolic process	Biological Process	GO:0019752, GO:0044238, GO:1901564	carboxylic acid metabolic process, primary metabolic process, organonitrogen compound metabolic process	6.6	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:1901360	organic cyclic compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0042440	pigment metabolic process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0001558	regulation of cell growth	Biological Process	GO:0051128, GO:0040008, GO:0016049	regulation of cellular component organization, regulation of growth, cell growth	1	1	TR16077 c0_g1_i1
4	GO:0044260	cellular macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0044237	macromolecule metabolic process, cellular metabolic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:1901564	organonitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0006807	organic substance metabolic process, nitrogen compound metabolic process	4.22	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0044281	small molecule metabolic process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	1.17	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0006807, GO:0044237	nitrogen compound metabolic process, cellular metabolic process	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0051128	regulation of cellular component organization	Biological Process	GO:0050794, GO:0016043	regulation of cellular process, cellular component organization	0.6	1	TR16077 c0_g1_i1
4	GO:0051186	cofactor metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0006810	transport	Biological Process	GO:0051234	establishment of localization	0.6	1	TR54470 c0_g1_i1
4	GO:0044249	cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044237	biosynthetic process, cellular metabolic process	1.15	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0044711	single-organism biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044710	biosynthetic process, single-organism metabolic process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:1901576	organic substance biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0071704	biosynthetic process, organic substance metabolic process	0.69	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0006082	organic acid metabolic process	Biological Process	GO:0044281, GO:0071704, GO:0044763, GO:0044237	small molecule metabolic process, organic substance metabolic process, single-organism cellular process, cellular metabolic process	1.94	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0046483	heterocycle metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0007154	cell communication	Biological Process	GO:0044763	single-organism cellular process	1.42	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
4	GO:0043170	macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0007165	signal transduction	Biological Process	GO:0044700, GO:0050794, GO:0007154, GO:0051716	single organism signaling, regulation of cellular process, cell communication, cellular response to stimulus	2.36	2	TR42640 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
5	GO:0051188	cofactor biosynthetic process	Biological Process	GO:0051186, GO:0044249	cofactor metabolic process, cellular biosynthetic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0006783	heme biosynthetic process	Biological Process	GO:0042168, GO:0046148, GO:0044711, GO:0006779	heme metabolic process, pigment biosynthetic process, single-organism biosynthetic process, porphyrin-containing compound biosynthetic process	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0006566	threonine metabolic process	Biological Process	GO:0006520, GO:0009066	cellular amino acid metabolic process, aspartate family amino acid metabolic process	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0046148	pigment biosynthetic process	Biological Process	GO:0042440	pigment metabolic process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0019438	aromatic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0006725	cellular biosynthetic process, cellular aromatic compound metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:1901362	organic cyclic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901360, GO:1901576	organic cyclic compound metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1



ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0018130	heterocycle biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0046483	cellular biosynthetic process, heterocycle metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0006544	glycine metabolic process	Biological Process	GO:0009069, GO:0006520	serine family amino acid metabolic process, cellular amino acid metabolic process	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0055085	transmembrane transport	Biological Process	GO:0006810	transport	1	1	TR54470 c0_g1_i1
5	GO:1901566	organonitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901576, GO:1901564	organic substance biosynthetic process, organonitrogen compound metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0007186	G-protein coupled receptor signaling pathway	Biological Process	GO:0007165	signal transduction	0.6	1	TR42640 c0_g1_i1
5	GO:0044271	cellular nitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0034641	cellular biosynthetic process, cellular nitrogen compound metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0044260, GO:0009059	cellular biosynthetic process, cellular macromolecule metabolic process, macromolecule biosynthetic process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0006563	L-serine metabolic process	Biological Process	GO:0009069, GO:0006520	serine family amino acid metabolic process, cellular amino acid metabolic process	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0006778	porphyrin-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0051186, GO:0033013	cofactor metabolic process, tetrapyrrole metabolic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0043436	oxoacid metabolic process	Biological Process	GO:0006082	organic acid metabolic process	2.38	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0033013	tetrapyrrole metabolic process	Biological Process	GO:0046483, GO:1901360, GO:0006725, GO:1901564	heterocycle metabolic process; organic cyclic compound metabolic process; cellular aromatic compound metabolic process, organonitrogen compound metabolic process	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0043170, GO:1901576	macromolecule metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:1901605	alpha-amino acid metabolic process	Biological Process	GO:0006082, GO:1901564	organic acid metabolic process, organonitrogen compound metabolic process	2.16	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
6	GO:0009069	serine family amino acid metabolic process	Biological Process	GO:1901605	alpha-amino acid metabolic process	2.4	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0006779	porphyrin-containing compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0033014, GO:0051188, GO:0006778	tetrapyrrole biosynthetic process, cofactor biosynthetic process, porphyrin-containing compound metabolic process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
6	GO:0042967	acyl-carrier-protein biosynthetic process	Biological Process	GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
6	GO:0033014	tetrapyrrole biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:1901566, GO:0033013, GO:0019438, GO:1901362, GO:0018130	cellular nitrogen compound biosynthetic process, organonitrogen compound biosynthetic process, tetrapyrrole metabolic process, aromatic compound biosynthetic process, organic cyclic compound biosynthetic process, heterocycle biosynthetic process	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
6	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	Biological Process	GO:0043436	oxoacid metabolic process	3.96	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-14 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0007218	neuropeptide signaling pathway	Biological Process	GO:0007186	G-protein coupled receptor signaling pathway	1	1	TR42640 c0_g1_i1
6	GO:0009066	aspartate family amino acid metabolic process	Biological Process	GO:1901605	alpha-amino acid metabolic process	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

### ตารางที่ 3-15 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0003674	molecular_function	Molecular Function			3.39	11	TR42640 c0_g1_i1, TR63138 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1, TR19778 c1_g3_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR12714 c0_g1_i1
2	GO:0060089	molecular transducer activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.13	1	TR52975 c0_g1_i1
2	GO:0098772	molecular function regulator	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.43	2	TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1
2	GO:0005488	binding	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	3.57	8	TR42640 c0_g1_i1, TR63138 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1, TR12714 c0_g1_i1
2	GO:0003824	catalytic activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	1.51	4	TR31322 c0_g1_i1, TR19778 c1_g3_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0016829	lyase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	2.36	2	TR11354 c0_g1_i1, TR19778 c1_g3_i1
3	GO:0005515	protein binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	3.58	3	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR52975 c0_g1_i1
3	GO:0036094	small molecule binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.13	1	TR63138 c0_g1_i1
3	GO:1901363	heterocyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.58	2	TR63138 c0_g1_i1, TR12714 c0_g1_i1
3	GO:0097367	carbohydrate derivative binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.13	1	TR63138 c0_g1_i1
3	GO:0004872	receptor activity	Molecular Function	GO:0060089	molecular transducer activity	0.22	1	TR52975 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-15 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0097159	organic cyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.58	2	TR63138 c0_g1_i1, TR12714 c0_g1_i1
3	GO:0030234	enzyme regulator activity	Molecular Function	GO:0098772	molecular function regulator	0.72	2	TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1
3	GO:0043167	ion binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.08	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0048037	cofactor binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1.8	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0016740	transferase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.16	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0005102	receptor binding	Molecular Function	GO:0005515	protein binding	0.36	1	TR42640 c0_g1_i1
4	GO:0001882	nucleoside binding	Molecular Function	GO:0097367, GO:0097159, GO:0036094, GO:1901363	carbohydrate derivative binding, organic cyclic compound binding, small molecule binding, heterocyclic compound binding	0.22	1	TR63138 c0_g1_i1
4	GO:0004857	enzyme inhibitor activity	Molecular Function	GO:0030234	enzyme regulator activity	1.2	2	TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1
4	GO:0032553	ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0097367, GO:0000166	carbohydrate derivative binding, nucleotide binding	0.22	1	TR63138 c0_g1_i1
4	GO:0030170	pyridoxal phosphate binding	Molecular Function	GO:0043168, GO:0048037	anion binding, cofactor binding	3	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0019838	growth factor binding	Molecular Function	GO:0005515	protein binding	0.6	1	TR16077 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-15 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0016746	transferase activity, transferring acyl groups	Molecular Function	GO:0016740	transferase activity	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0043168	anion binding	Molecular Function	GO:0043167	ion binding	1.8	3	TR31322 c0_g1_i1, TR11354 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0061134	peptidase regulator activity	Molecular Function	GO:0030234	enzyme regulator activity	1.2	2	TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1
4	GO:0003676	nucleic acid binding	Molecular Function	GO:0097159, GO:1901363	organic cyclic compound binding, heterocyclic compound binding	0.6	1	TR12714 c0_g1_i1
4	GO:1901265	nucleoside phosphate binding	Molecular Function	GO:0097159, GO:1901363	organic cyclic compound binding, heterocyclic compound binding	0.36	1	TR63138 c0_g1_i1
4	GO:0016830	carbon-carbon lyase activity	Molecular Function	GO:0016829	lyase activity	0.6	1	TR11354 c0_g1_i1
4	GO:0038024	cargo receptor activity	Molecular Function	GO:0004872	receptor activity	0.36	1	TR52975 c0_g1_i1
4	GO:0000166	nucleotide binding	Molecular Function	GO:0036094, GO:1901265	small molecule binding, nucleoside phosphate binding	0.13	1	TR63138 c0_g1_i1
5	GO:0017076	purine nucleotide binding	Molecular Function	GO:0000166	nucleotide binding	0.22	1	TR63138 c0_g1_i1
5	GO:0005179	hormone activity	Molecular Function	GO:0005102	receptor binding	0.6	1	TR42640 c0_g1_i1
5	GO:0030228	lipoprotein particle receptor activity	Molecular Function	GO:0038024	cargo receptor activity	0.6	1	TR52975 c0_g1_i1
5	GO:0032549	ribonucleoside binding	Molecular Function	GO:0001882	nucleoside binding	0.36	1	TR63138 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-15 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate binding	Molecular Function	GO:1901265	nucleoside phosphate binding	0.6	1	TR63138 c0_g1_i1
5	GO:0005520	insulin-like growth factor binding	Molecular Function	GO:0019838	growth factor binding	1	1	TR16077 c0_g1_i1
5	GO:0016831	carboxy-lyase activity	Molecular Function	GO:0016830	carbon-carbon lyase activity	1	1	TR11354 c0_g1_i1
5	GO:0030414	peptidase inhibitor activity	Molecular Function	GO:0061134, GO:0004857	peptidase regulator activity, enzyme inhibitor activity	2	2	TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1
5	GO:0001883	purine nucleoside binding	Molecular Function	GO:0001882	nucleoside binding	0.36	1	TR63138 c0_g1_i1
5	GO:0003677	DNA binding	Molecular Function	GO:0003676	nucleic acid binding	1	1	TR12714 c0_g1_i1
5	GO:0016747	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups	Molecular Function	GO:0016746	transferase activity, transferring acyl groups	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0032555	purine ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0017076, GO:0032553	purine nucleotide binding, ribonucleotide binding	0.36	1	TR63138 c0_g1_i1
6	GO:0032550	purine ribonucleoside binding	Molecular Function	GO:0032549, GO:0001883	ribonucleoside binding, purine nucleoside binding	0.6	1	TR63138 c0_g1_i1
6	GO:0030554	adenyl nucleotide binding	Molecular Function	GO:0017076	purine nucleotide binding	0.36	1	TR63138 c0_g1_i1
6	GO:0005184	neuropeptide hormone activity	Molecular Function	GO:0005179	hormone activity	1	1	TR42640 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-15 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/1

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0005524	ATP binding	Molecular Function	GO:0032550, GO:0032559, GO:0035639	purine ribonucleoside binding, adenyl ribonucleotide binding, purine ribonucleoside triphosphate binding	1	1	TR63138 c0_g1_i1
6	GO:0032559	adenyl ribonucleotide binding	Molecular Function	GO:0030554, GO:0032555	adenyl nucleotide binding, purine ribonucleotide binding	0.6	1	TR63138 c0_g1_i1
6	GO:0016748	succinyltransferase activity	Molecular Function	GO:0016747	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
6	GO:0030229	very-low-density lipoprotein particle receptor activity	Molecular Function	GO:0030228	lipoprotein particle receptor activity	1	1	TR52975 c0_g1_i1
6	GO:0016410	N-acyltransferase activity	Molecular Function	GO:0016747	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
7	GO:0016749	N-succinyltransferase activity	Molecular Function	GO:0016410, GO:0016748	N-acyltransferase activity, succinyltransferase activity	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
8	GO:0003870	5-aminolevulinatase activity	Molecular Function	GO:0016749	N-succinyltransferase activity	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-16 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/1

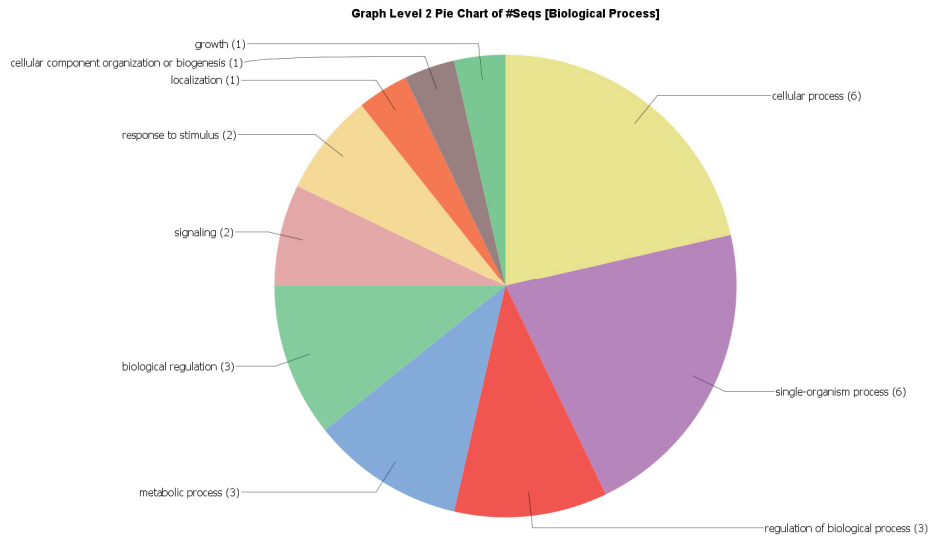
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0005575	cellular_component	Cellular Component			4.94	8	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR31322 c0_g1_i1, TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1, TR38097 c0_g1_i1, TR54470 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0044422	organelle part	Cellular Component	GO:0005575, GO:0043226	cellular_component, organelle	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0044464	cell part	Cellular Component	GO:0005575, GO:0005623	cellular_component, cell	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0005623	cell	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0043226	organelle	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0044421	extracellular region part	Cellular Component	GO:0005576, GO:0005575	extracellular region, cellular_component	1.8	2	TR16077 c0_g1_i1, TR38097 c0_g1_i1
2	GO:0005576	extracellular region	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	6.08	5	TR42640 c0_g1_i1, TR16077 c0_g1_i1, TR33438 c0_g1_i2, TR33438 c0_g1_i1, TR38097 c0_g1_i1
2	GO:0031974	membrane-enclosed lumen	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
2	GO:0016020	membrane	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	1	1	TR54470 c0_g1_i1
2	GO:0032991	macromolecular complex	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.22	1	TR16077 c0_g1_i1
3	GO:0043234	protein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	0.36	1	TR16077 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-16 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/1

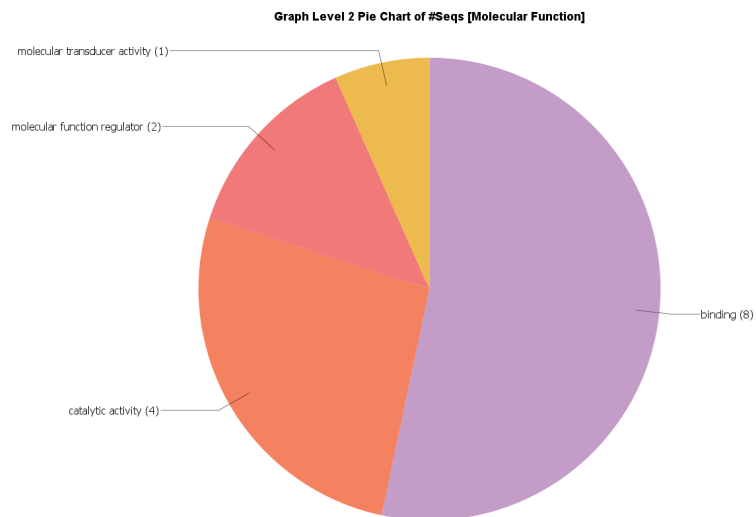
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0016942	insulin-like growth factor binding protein complex	Cellular Component	GO:0005615, GO:0044421, GO:0036454	extracellular space, extracellular region part, growth factor complex	1	1	TR16077 c0_g1_i1
3	GO:0043227	membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	0.26	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0005622	intracellular	Cellular Component	GO:0044464	cell part	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0005615	extracellular space	Cellular Component	GO:0044421	extracellular region part	2.6	2	TR16077 c0_g1_i1, TR38097 c0_g1_i1
3	GO:0043233	organelle lumen	Cellular Component	GO:0031974, GO:0044422, GO:0043226	membrane-enclosed lumen, organelle part, organelle	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0043229	intracellular organelle	Cellular Component	GO:0043226, GO:0044424	organelle, intracellular part	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0044446	intracellular organelle part	Cellular Component	GO:0044422, GO:0043229, GO:0044424	organelle part, intracellular organelle, intracellular part	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
3	GO:0044424	intracellular part	Cellular Component	GO:0044464, GO:0005622	cell part, intracellular	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0044444	cytoplasmic part	Cellular Component	GO:0005737, GO:0044424	cytoplasm, intracellular part	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0070013	intracellular organelle lumen	Cellular Component	GO:0043233, GO:0043229, GO:0044424	organelle lumen, intracellular organelle, intracellular part	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-16 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/1

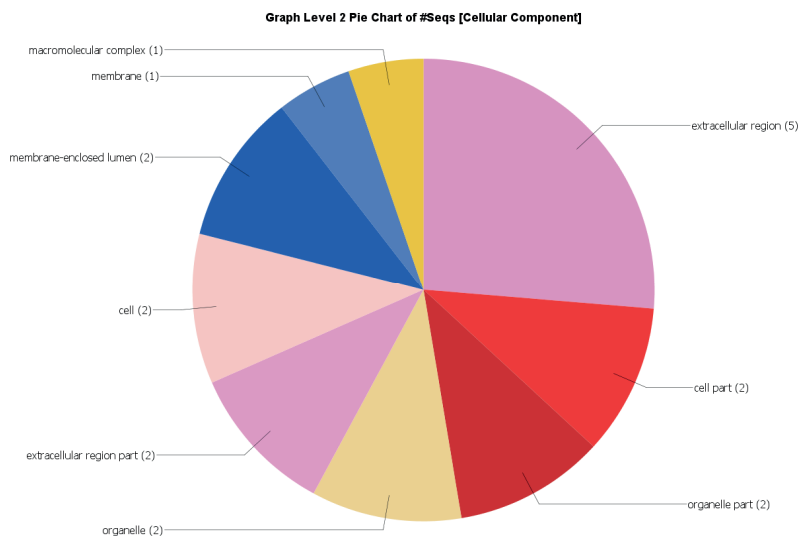
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0005737	cytoplasm	Cellular Component	GO:0044424	intracellular part	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043229, GO:0043227	intracellular organelle, membrane-bounded organelle	0.43	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0044429	mitochondrial part	Cellular Component	GO:0044446, GO:0005739, GO:0044444	intracellular organelle part, mitochondrion, cytoplasmic part	1.2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
4	GO:0036454	growth factor complex	Cellular Component	GO:0043234	protein complex	0.6	1	TR16077 c0_g1_i1
5	GO:0005759	mitochondrial matrix	Cellular Component	GO:0044429, GO:0070013	mitochondrial part, intracellular organelle lumen	2	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1
5	GO:0005739	mitochondrion	Cellular Component	GO:0044444, GO:0043231	cytoplasmic part, intracellular membrane-bounded organelle	0.72	2	TR31322 c0_g1_i1, TR31322 c0_g2_i1



ภาพที่ 3-12 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 2/1



ภาพที่ 3-13 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 2/1



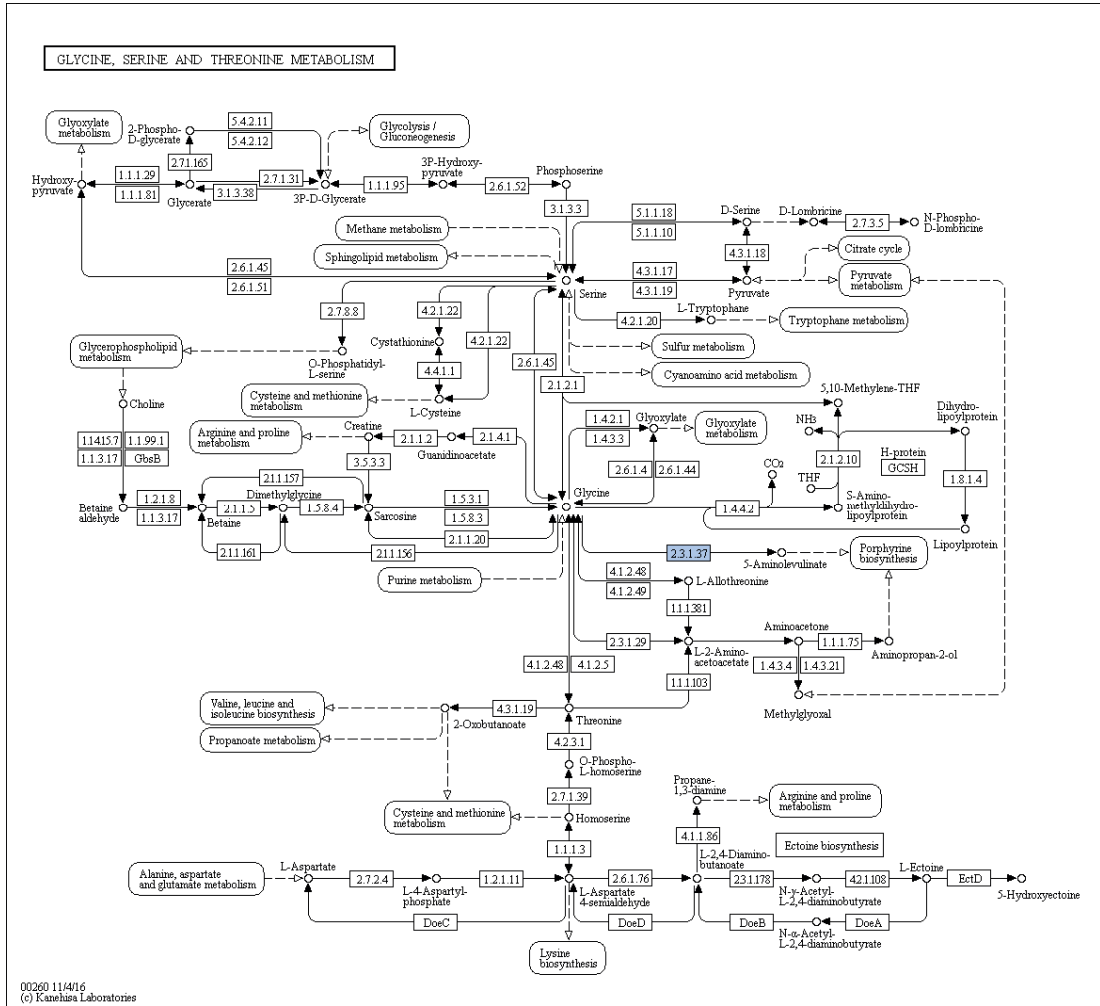
ภาพที่ 3-14 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 2/1

### Pathway analysis

ในกลุ่มที่ 2/1 พบ enzyme pathway จำนวน 2 pathway จาก 2 transcripts ประกอบไปด้วย Glycine, serine and threonine metabolism และ Porphyrin and chlorophyll metabolism ดังตารางที่ 3-17

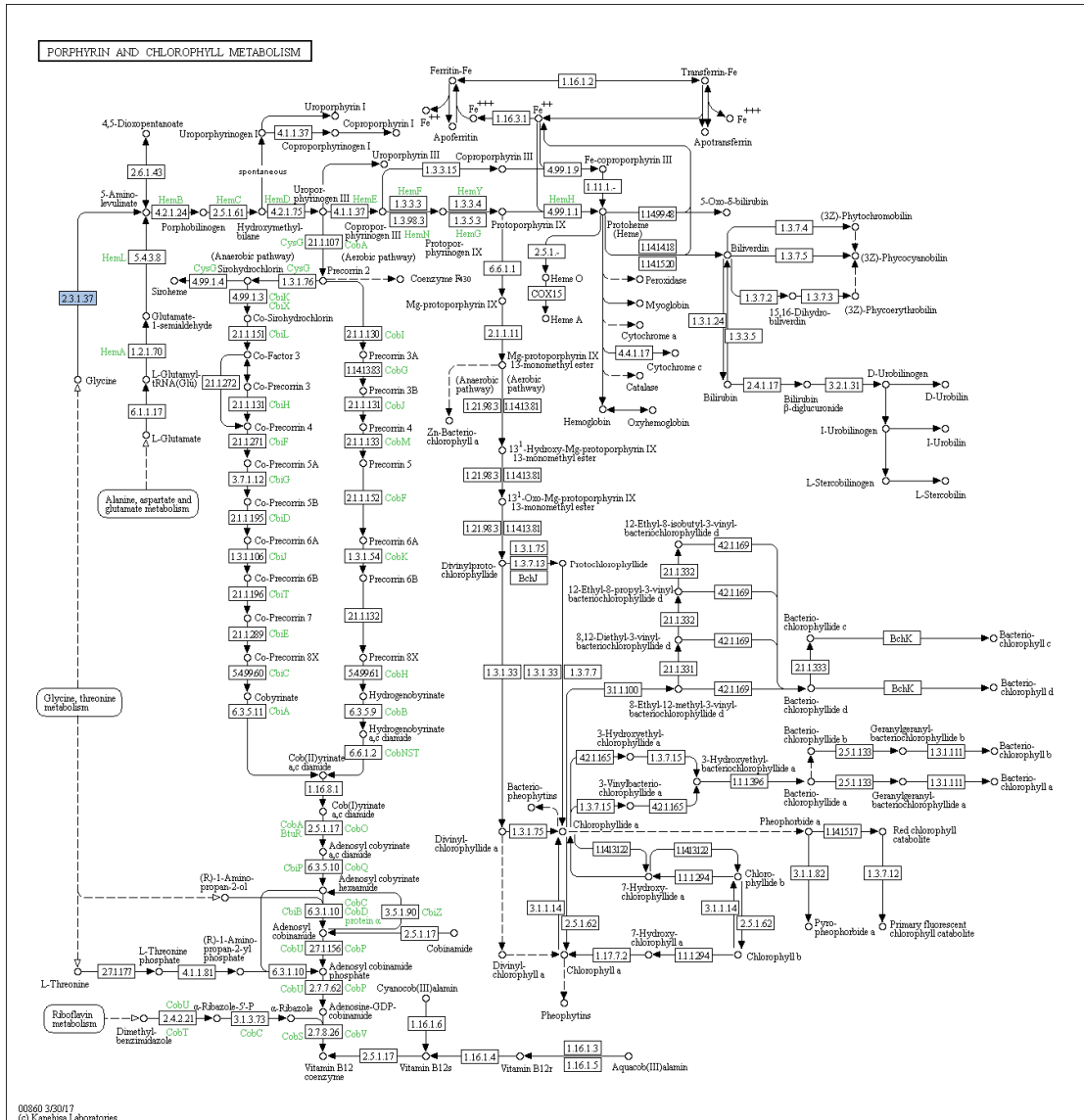
ตารางที่ 3-17 pathway ในกลุ่มที่ 2/1

Seq	Pathway	Pathway ID	#Enzs in Pathway	Enzyme
TR31322 c0_g1_i1	Glycine, serine and threonine metabolism, Porphyrin and chlorophyll metabolism	map00260, map00860	1, 1	ec:2.3.1.37 - synthase, ec:2.3.1.37 - synthase
TR31322 c0_g2_i1	Glycine, serine and threonine metabolism, Porphyrin and chlorophyll metabolism	map00260, map00860	1, 1	ec:2.3.1.37 - synthase, ec:2.3.1.37 - synthase



ภาพที่ 3-15 Glycine, serine and threonine metabolism pathway ในกลุ่มที่ 2/1





ภาพที่ 3-16 Porphyrin and chlorophyll metabolism pathway ในกลุ่มที่ 2/1

### 3.2.4 กลุ่มที่ 2/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มขึ้น

มีทั้งหมด 32 transcripts มีลักษณะการแสดงออกสูงขึ้นเมื่อได้รับเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ (hc0\_a ในภาพที่ 3-1) สามารถระบุชื่อยีนจากฐานข้อมูล blastx ได้ทั้งหมด 16 transcripts และนำไปอธิบายถึงหน้าที่ของยีนได้ทั้งหมด 8 transcripts จาก 16 transcripts ที่สามารถระบุชื่อยีนได้ ดังตารางที่ 3-18 โดยการนำเอาข้อมูลจากฐานข้อมูลออนไลน์ GO โดยในแต่ละ transcript จะเป็นส่วนของ biological process, molecular function และ cellular component ดังตารางที่ 3-19 โดยมีการจัดลำดับชั้นตามรูปแบบของ gene ontology ดังตารางที่ 3-20, 3-21 และ 3-22 สามารถสรุปองค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ตามระดับที่ 2 (level 2) ของการจัดลำดับตามรูปแบบของ gene ontology ได้ดังนี้

biological process มีทั้งหมด 7 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่อยู่ในส่วนของ cellular process จำนวน 6 transcripts, metabolic process จำนวน 5 transcripts, biological regulation จำนวน 4 transcripts และส่วนอื่นๆอีก 4 ส่วนประกอบ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-17

molecular function มีทั้งหมด 4 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็น binding จำนวน 5 transcripts, catalytic activity จำนวน 3 transcripts และส่วนประกอบอื่นๆอีก 2 ส่วนประกอบ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-18

cellular component มีทั้งหมด 9 ส่วนประกอบ โดยส่วนใหญ่เป็นส่วนของ cell part จำนวน 4 transcripts, cell จำนวน 4 transcripts, organelle จำนวน 3 transcripts และส่วนอื่นๆอีก 6 ส่วนประกอบ ซึ่งมีสัดส่วนตามภาพที่ 3-19

ตารางที่ 3-18 องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Lengt h	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR46507 c0_g7_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR9150 c2_g3_i1	---NA---	350									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR56365 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR42556 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR215 c2_g1_i1	CCA tRNA nucleotidyltransferas e mitochondrial	540	9	1.09E-08	59.33	4	F:GO:0016779; F:GO:0003723; P:GO:0006396; F:GO:0016740	F:nucleotidyltransferas e activity; F:RNA binding; P:RNA processing; F:transferase activity			no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR3826 c2_g2_i1	MADF domain transcription factor	540	20	2.45E-07	53.8	6	F:GO:0000166; F:GO:0016887; F:GO:0003677; F:GO:0005524; C:GO:0016020; C:GO:0016021	F:nucleotide binding; F:ATPase activity; F:DNA binding; F:ATP binding; C:membrane; C:integral component of membrane			IPR006578 (PFAM); PTHR12243 (PANTHER); IPR006578 (PROSITE_PROFILES)	no GO terms	no GO terms
TR22540 c1_g4_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR32997 c0_g1_i1	serine ase inhibitor	540	20	2.61E-49	58.1	1	C:GO:0005615	C:extracellular space			IPR023796 (PFAM); G3DSA:3.30.497.10 (GENE3D); G3DSA:1.10.287.580 (GENE3D); IPR000215 (PANTHER); PTHR11461.SF223 (PANTHER); IPR023796 (SUPERFAMILY)	C:GO:0005615 space	C:extracellular space
TR1170 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-18 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Lengt h	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR29983 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR40216 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR17513 c0_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR56162 c0_g1_i1	---NA---	540								mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms	no GO terms
TR19827 c0_g1_i1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC107334107	540	12	4.68E-19	51.17						no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR3310 c0_g1_i1	succinate dehydrogenase assembly factor mitochondrial-like	540	20	5.04E-29	72.05						IPR012875 (PFAM); mobidb-lite (MOBIDB_LITE); PTHR28524 (PANTHER); PTHR28524:SF4 (PANTHER)	no GO terms	no GO terms
TR3737 c0_g1_i1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC106881793	417	20	5.48E-51	67.7	3	F:GO:0003677; P:GO:0006355; P:GO:0032502	F:DNA binding; P:regulation of transcription, DNA- templated; P:developmental process			no GO terms	no GO terms	no GO terms

ตารางที่ 3-18 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Lengt h	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR3737 c0_g1_l2	hypothetical protein Y032_0655g1201	540	20	1.41E-28	59.7	2	F:GO:0003677; P:GO:0006355	F:DNA binding; P:regulation of transcription, DNA- templated			IPR011991 (G3DSA:1.10.10.GENE3 D); IPR001523 (PFAM); PTHR23022 (PANTHER); PTHR23022:SF92 (PANTHER), IPR009057 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003677; P:GO:0006355	F:DNA binding; P:regulation of transcription, DNA-templated
TR11263 c0_g2_l1	CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1	540	20	4.74E-80	83.6	4	F:GO:0003676; F:GO:0004535; P:GO:0051252; P:GO:0000289	F:nucleic acid binding; F:poly(A)-specific ribonuclease activity; P:regulation of RNA metabolic process; P:nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening	EC:3.1; EC:3.1.13; EC:3.1.15; EC:3.1.13.4	Acting on ester bonds; Acting on ester bonds; Acting on ester bonds; Poly(A)- specific ribonuclease	IPR012337 (G3DSA:3.30.420.GENE 3D); IPR006941 (PFAM); PTHR10797:SF18 (PANTHER); PTHR10797 (PANTHER), IPR012337 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003676; F:GO:0004535; P:GO:0000289	F:nucleic acid binding; F:poly(A)- specific ribonuclease activity; P:nuclear- transcribed mRNA poly(A) tail shortening no GO terms
TR9235 c0_g1_l1	--NA--	540									mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms

ตารางที่ 3-18 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Lengt h	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR51223 c0_g1_i1	39S ribosomal mitochondrial-like	540	20	1.92E-23	65.85	4	F:GO:0003735; P:GO:0042254; C:GO:0005840; P:GO:0006412	F:structural constituent of ribosome; P:ribosome biogenesis; C:ribosome; P:translation			G3DSA:1.20.5.710 (GENE3D); IPR008932 (PFAM); IPR014719 (G3DSA:3.30.1390.GEN E3D); PTHR24089:SF419 (PANTHER); PTHR24089 (PANTHER); IPR013823 (PRODOM); IPR008932 (SUPERFAMILY)	F:GO:0003735; C:GO:0005840; C:GO:0005622; P:GO:0006412	F:structural constituent of ribosome; C:ribosome; C:intracellular; P:translation
TR25748 c0_g2_i1	---NA---	540											
TR44887 c0_g2_i1	---NA---	416											
TR35743 c1_g2_i1	putative tick transposon, partial	540	1	4.14E-04	53								
TR61525 c0_g1_i1	kinase D-interacting substrate of 220 kDa isoform X4	540	20	1.47E-07	74.85	5	F:GO:0031625; C:GO:0016020; C:GO:0016021; C:GO:0005783; P:GO:0030433	F:ubiquitin protein ligase binding; C:membrane; C:integral component of membrane; C:endoplasmic reticulum; P:ER- associated ubiquitin- dependent protein catabolic process					

ตารางที่ 3-18 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR14051 c0_g1_j1	5'-3' exoribonuclease 2 homolog	540	20	1.24E-99	86.75	6	F:GO:0003676; C:GO:0005634; F:GO:0004534; P:GO:0090503; F:GO:0008270; P:GO:0051252	F:nucleic acid binding; C:nucleus; F:5'3' exoribonuclease activity; P:RNA phosphodiester bond hydrolysis; exonucleolytic; F:zinc ion binding; P:regulation of RNA metabolic process	EC:3.1; EC:3.1.13; EC:3.1.15	Acting on ester bonds; Acting on ester bonds; Acting on ester bonds	PTHR12341:SF41 (PANTHER), IPR027073 (PANTHER)	no GO terms	no GO terms
TR16718 c0_g1_j1	electron transfer flavo-ubiquinone mitochondrial	540	20	6.17E-54	78.3	9	P:GO:0006979; C:GO:0031305; P:GO:0033539; P:GO:0006118; F:GO:0009055; P:GO:0022904; F:GO:0004174; F:GO:0048039; F:GO:0051539	P:response to oxidative stress; C:integral component of mitochondrial inner membrane; P:fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase; P:obsoleter electron transport; F:electron carrier activity; P:respiratory electron transport chain; F:electron-transferring- flavoprotein dehydrogenase activity; F:ubiquinone binding; F:4 iron, 4 sulfur cluster binding	EC:1.5.5.1	Electron- transferring- flavoprotein dehydrogenas e	no IPS match	no IPS match	no IPS match

ตารางที่ 3-18 (ต่อ) องค์ประกอบของ transcripts ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	Lengt h	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	GO IDs	GO Names	Enzyme codes	Enzyme names	InterPro IDs	InterPro GO IDs	InterPro GO Names
TR18983 c0_g2_i1	transforming growth factor-beta receptor-associated 1-like	540	20	2.02E-24	61.4	5	F:GO:0005515; P:GO:0050794; P:GO:0044763; P:GO:0006810; C:GO:0005622	F:protein binding; P:regulation of cellular process; P:single-organism cellular process; P:transport; C:intracellular			no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR49314 c8_g1_i1	---NA---	540									no IPS match	no IPS match	no IPS match
TR20053 c1_g2_i1	---NA---	540								mobidb-lite (MOBIDB_LITE)	no GO terms	no GO terms	no GO terms
TR11674 c0_g2_i1	PREDICTED: uncharacterized protein KIAA2013-like	540	20	3.52E-35	80.7	1	C:GO:0016021	C:integral component of membrane			IPR018795 (PFAM); PTHR31386 (PANTHER)	no GO terms	no GO terms
TR5321 c0_g2_i1	cat eye syndrome critical region 5-like	540	20	6.82E-66	74.1						IPR006357 (PFAM); IPR023214 (G3DSA:3.40.50.GENE3 D); PTHR14269:SF29 (PANTHER); PTHR14269 (PANTHER); IPR023214 (SUPERFAMILY)	no GO terms	no GO terms
TR40242 c0_g3_i1	---NA---	468									no IPS match	no IPS match	no IPS match



ตารางที่ 3-19 หน้าที่ยังอยู่ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR11263 c0_g2_i1	CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1	biological regulation, metabolic process, cellular process, regulation of biological process	regulation of RNA metabolic process, regular of cellular process, nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening	catalytic activity, binding	poly(A)-specific ribonuclease activity, nucleic acid binding			cellular component
TR51223 c0_g1_i1	39S ribosomal mitochondrial-like	metabolic process, cellular process, cellular component	translation, ribosome biogenesis	structural molecule activity	structural constituent of ribosome		cell part, cell, macromolecular complex, organelle	intracellular, ribosome
TR18983 c0_g2_i1	transforming growth factor-beta receptor-associated 1-like	biological regulation, localization, cellular process, single-organism process, regulation of biological process	regular of cellular process, transport, single-organism cellular process	binding	protein binding		cell part, cell	intracellular
TR3737 c0_g1_i2	hypothetical protein Y032_0655g1201	biological regulation, metabolic process, cellular process, regulation of biological process	regulation of RNA metabolic process, regulation of transcription, DNA-template, regular of cellular process	binding	DNA binding, nucleic acid binding			

ตารางที่ 3-19 (ต่อ) หน้าที่ยังอยู่ในกลุ่มที่ 2/2

SeqName	description	biological process (level 2)	biological process	molecular function (level 2)	molecular function	molecular function	cellular component (level 2)	cellular component
TR14051 c0_g1_i1	5-3 exoribonuclease 2 homolog	biological regulation, metabolic process, cellular process, regulation of biological process	regulation of RNA metabolic process, regulation of cellular process, RNA phosphodiester bond hydrolysis, exonucleolytic	catalytic activity, binding	5-3' exoribonuclease activity, zinc ion binding, nucleic acid binding		cell part, cell, organelle	cellular component nucleus, intracellular
TR16718 c0_g1_i1	electron transfer flavo -ubiquinone mitochondrial	metabolic process, cellular process, single- organism process, response to stimulus	single-organism cellular process (respiratory electron transport chain, fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase), response to oxidative stress	catalytic activity, electron carrier activity, binding	electron- transferring- flavoprotein dehydrogenase activity, electron carrier activity, ubiquinone binding, 4 iron, 4 sulfur cluster binding		membrane, organelle part, cell part, cell, organelle, membrane part	integral component of mitochondrial inner membrane, integral component of membrane, intracellular
TR11674 c0_g2_i1	PREDICTED: uncharacterized protein KIAA2013- like						membrane, membrane part	integral component of membrane
TR32997 c0_g1_i1	serine ase inhibitor						extracellular region part, extracellular region	extracellular space

ตารางที่ 3-20 gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0008150	biological_process	Biological Process			3.49	6	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0065007	biological regulation	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1.91	4	TR11263 c0_g2_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
2	GO:0050789	regulation of biological process	Biological Process	GO:0065007, GO:0008150	biological regulation, biological_process	3.18	4	TR11263 c0_g2_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
2	GO:0008152	metabolic process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1.19	5	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0009987	cellular process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	4.56	6	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0071840	cellular component organization or biogenesis	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.22	1	TR51223 c0_g1_i1
2	GO:0050896	response to stimulus	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0051179	localization	Biological Process	GO:0008150	biological_process	0.36	1	TR18983 c0_g2_i1
2	GO:0044699	single-organism process	Biological Process	GO:0008150	biological_process	1.46	2	TR18983 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0006950	response to stress	Biological Process	GO:0050896	response to stimulus	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0044710	single-organism metabolic process	Biological Process	GO:0008152, GO:0044699	metabolic process, single-organism process	0.29	1	TR16718 c0_g1_i1

**ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2**

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0006807	nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.9	4	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0071704	organic substance metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	1.15	5	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0044763	single-organism cellular process	Biological Process	GO:0009987, GO:0044699	cellular process, single-organism process	2.44	2	TR18983 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0051234	establishment of localization	Biological Process	GO:0051179	localization	0.6	1	TR18983 c0_g2_i1
3	GO:0019222	regulation of metabolic process	Biological Process	GO:0050789, GO:0008152	regulation of biological process, metabolic process	1.3	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0050794	regulation of cellular process	Biological Process	GO:0050789, GO:0009987	regulation of biological process, cellular process	4.78	4	TR11263 c0_g2_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0009056	catabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.12	2	TR11263 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0009058	biosynthetic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	0.35	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
3	GO:0044237	cellular metabolic process	Biological Process	GO:0008152, GO:0009987	metabolic process, cellular process	1.46	5	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0044085	cellular component biogenesis	Biological Process	GO:0071840	cellular component organization or biogenesis	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0044238	primary metabolic process	Biological Process	GO:0008152	metabolic process	1.08	5	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
4	GO:1901576	organic substance biosynthetic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0009058	organic substance metabolic process, biosynthetic process	0.35	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
4	GO:0006979	response to oxidative stress	Biological Process	GO:0006950	response to stress	1	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0080090	regulation of primary metabolic process	Biological Process	GO:0044238, GO:0019222	primary metabolic process, regulation of metabolic process	1.16	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0044255	cellular lipid metabolic process	Biological Process	GO:0006629, GO:0044763, GO:0044237	lipid metabolic process, single-organism cellular process, cellular metabolic process	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0046483	heterocycle metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.82	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0044712	single-organism catabolic process	Biological Process	GO:0009056, GO:0044710	catabolic process, single-organism metabolic process	0.08	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0043170	macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	1.83	4	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0006629	lipid metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0044238, GO:0044710	organic substance metabolic process, primary metabolic process, single-organism metabolic process	0.08	1	TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0009889	regulation of biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0019222	biosynthetic process, regulation of metabolic process	0.22	1	TR3737 c0_g1_i2
4	GO:0015980	energy derivation by oxidation of organic compounds	Biological Process	GO:0044763, GO:0006091, GO:0055114	single-organism cellular process, generation of precursor metabolites and energy, oxidation-reduction process	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0006082	organic acid metabolic process	Biological Process	GO:0044763, GO:0071704, GO:0044281, GO:0044237	single-organism cellular process, organic substance metabolic process, small molecule metabolic process, cellular metabolic process	0.05	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0022900	electron transport chain	Biological Process	GO:0044763, GO:0006091, GO:0055114	single-organism cellular process, generation of precursor metabolites and energy, oxidation-reduction process	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0006807, GO:0044237	nitrogen compound metabolic process, cellular metabolic process	0.95	4	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0044260	cellular macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0044237	macromolecule metabolic process, cellular metabolic process	1.95	4	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0044248	cellular catabolic process	Biological Process	GO:0009056, GO:0044237	catabolic process, cellular metabolic process	0.21	2	TR11263 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0006091	generation of precursor metabolites and energy	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:1901564	organonitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0006807	organic substance metabolic process, nitrogen compound metabolic process	0.22	1	TR51223 c0_g1_i1
4	GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	Biological Process	GO:0006807, GO:0019222	nitrogen compound metabolic process, regulation of metabolic process	1.16	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0055114	oxidation-reduction process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	0.49	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0044249	cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0009058, GO:0044237	biosynthetic process, cellular metabolic process	0.58	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
4	GO:0006810	transport	Biological Process	GO:0051234	establishment of localization	1	1	TR18983 c0_g2_i1
4	GO:0006725	cellular aromatic compound metabolic process	Biological Process	GO:0044237	cellular metabolic process	0.82	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0022613	ribonucleoprotein complex biogenesis	Biological Process	GO:0044085	cellular component biogenesis	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1
4	GO:1901575	organic substance catabolic process	Biological Process	GO:0071704, GO:0009056	organic substance metabolic process, catabolic process	0.12	2	TR11263 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0019538	protein metabolic process	Biological Process	GO:0044238, GO:0043170	primary metabolic process, macromolecule metabolic process	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1
4	GO:0060255	regulation of macromolecule metabolic process	Biological Process	GO:0019222, GO:0043170	regulation of metabolic process, macromolecule metabolic process	2.16	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0044281	small molecule metabolic process	Biological Process	GO:0044710	single-organism metabolic process	0.03	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0031323	regulation of cellular metabolic process	Biological Process	GO:0019222, GO:0050794, GO:0044237	regulation of metabolic process, regulation of cellular process, cellular metabolic process	1.3	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:1901360	organic cyclic compound metabolic process	Biological Process	GO:0071704	organic substance metabolic process	0.82	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0006139	nucleobase-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0044238, GO:0046483, GO:0006725, GO:0034641, GO:1901360	primary metabolic process, heterocycle metabolic process, cellular aromatic compound metabolic process, cellular nitrogen compound metabolic process, organic cyclic compound metabolic process	1.37	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0006518	peptide metabolic process	Biological Process	GO:1901564, GO:0043603	organonitrogen compound metabolic process, cellular amide metabolic process	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0044270	cellular nitrogen compound catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0034641	cellular catabolic process, cellular nitrogen compound metabolic process	0.08	1	TR11263 c0_g2_i1
5	GO:0046700	heterocycle catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0046483	cellular catabolic process, heterocycle metabolic process	0.08	1	TR11263 c0_g2_i1
5	GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0043170, GO:1901576	macromolecule metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.58	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0010467	gene expression	Biological Process	GO:0043170	macromolecule metabolic process	0.96	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0051252	regulation of RNA metabolic process	Biological Process	GO:0016070, GO:0060255, GO:0019219	RNA metabolic process, regulation of macromolecule metabolic process, regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	3.22	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0034655	nucleobase-containing compound catabolic process	Biological Process	GO:0019439, GO:0044270, GO:0046700, GO:0006139, GO:1901361	aromatic compound catabolic process, cellular nitrogen compound catabolic process, heterocycle catabolic process, nucleobase-containing compound metabolic process, organic cyclic compound catabolic process	0.13	1	TR11263 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0006631	fatty acid metabolic process	Biological Process	GO:0032787, GO:0044255	monocarboxylic acid metabolic process, cellular lipid metabolic process	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0016054	organic acid catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0044282, GO:1901575, GO:0006082	cellular catabolic process, small molecule catabolic process, organic substance catabolic process, organic acid metabolic process	0.08	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0031326	regulation of cellular biosynthetic process	Biological Process	GO:0009889, GO:0044249, GO:0031323	regulation of biosynthetic process, cellular biosynthetic process, regulation of cellular metabolic process	0.36	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0090304	nucleic acid metabolic process	Biological Process	GO:0043170, GO:0006139	macromolecule metabolic process, nucleobase-containing compound metabolic process	1.45	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0022904	respiratory electron transport chain	Biological Process	GO:0022900, GO:0045333	electron transport chain, cellular respiration	1	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0034440	lipid oxidation	Biological Process	GO:0055114, GO:0030258	oxidation-reduction process, lipid modification	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0009057	macromolecule catabolic process	Biological Process	GO:1901575, GO:0043170	organic substance catabolic process, macromolecule metabolic process	0.08	1	TR11263 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0034654	nucleobase-containing compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:1901362, GO:0019438, GO:0006139, GO:0018130	cellular nitrogen compound biosynthetic process, organic cyclic compound biosynthetic process, aromatic compound biosynthetic process, nucleobase-containing compound metabolic process, heterocycle biosynthetic process	0.13	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0045333	cellular respiration	Biological Process	GO:0015980	energy derivation by oxidation of organic compounds	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0010468	regulation of gene expression	Biological Process	GO:0060255, GO:0010467	regulation of macromolecule metabolic process, gene expression	0.6	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0044271	cellular nitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0034641	cellular biosynthetic process, cellular nitrogen compound metabolic process	0.29	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0019439	aromatic compound catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0006725	cellular catabolic process, cellular aromatic compound metabolic process	0.08	1	TR11263 c0_g2_i1
5	GO:0044242	cellular lipid catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0044255, GO:0016042	cellular catabolic process, cellular lipid metabolic process, lipid catabolic process	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0016042	lipid catabolic process	Biological Process	GO:0006629, GO:0044712, GO:1901575	lipid metabolic process, single-organism catabolic process, organic substance catabolic process	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0019438	aromatic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0006725	cellular biosynthetic process, cellular aromatic compound metabolic process	0.08	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0043603	cellular amide metabolic process	Biological Process	GO:0034641	cellular nitrogen compound metabolic process	0.22	1	TR51223 c0_g1_i1
5	GO:1901362	organic cyclic compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901576, GO:1901360	organic substance biosynthetic process, organic cyclic compound metabolic process	0.08	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0030258	lipid modification	Biological Process	GO:0044255	cellular lipid metabolic process	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0016070	RNA metabolic process	Biological Process	GO:0090304, GO:0044260	nucleic acid metabolic process, cellular macromolecule metabolic process	2.42	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0010556	regulation of macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0009889, GO:0060255, GO:0009059	regulation of biosynthetic process, regulation of macromolecule metabolic process, macromolecule biosynthetic process	0.36	1	TR3737 c0_g1_i2
5	GO:0044267	cellular protein metabolic process	Biological Process	GO:0019538, GO:0044260	protein metabolic process, cellular macromolecule metabolic process	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0044282	small molecule catabolic process	Biological Process	GO:0044712, GO:0044281	single-organism catabolic process, small molecule metabolic process	0.05	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:1901566	organonitrogen compound biosynthetic process	Biological Process	GO:1901564, GO:1901576	organonitrogen compound metabolic process, organic substance biosynthetic process	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1
5	GO:0042254	ribosome biogenesis	Biological Process	GO:0022613	ribonucleoprotein complex biogenesis	1	1	TR51223 c0_g1_i1
5	GO:0044265	cellular macromolecule catabolic process	Biological Process	GO:0044248, GO:0009057, GO:0044260	cellular catabolic process, macromolecule catabolic process, cellular macromolecule metabolic process	0.13	1	TR11263 c0_g2_i1
5	GO:0019219	regulation of nucleobase-containing compound metabolic process	Biological Process	GO:0080090, GO:0031323, GO:0051171, GO:0006139	regulation of primary metabolic process, regulation of cellular metabolic process, regulation of nitrogen compound metabolic process, nucleobase-containing compound metabolic process	1.93	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:1901361	organic cyclic compound catabolic process	Biological Process	GO:1901575, GO:1901360	organic substance catabolic process, organic cyclic compound metabolic process	0.08	1	TR11263 c0_g2_i1
5	GO:0018130	heterocycle biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0046483	cellular biosynthetic process, heterocycle metabolic process	0.08	1	TR3737 c0_g1_i2

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0043436	oxoacid metabolic process	Biological Process	GO:0006082	organic acid metabolic process	0.05	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0044249, GO:0009059, GO:0044260	cellular biosynthetic process, macromolecule biosynthetic process, cellular macromolecule metabolic process	0.96	2	TR51223 c0_g1_i1, TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0090305	nucleic acid phosphodiester bond hydrolysis	Biological Process	GO:0090304	nucleic acid metabolic process	0.36	1	TR14051 c0_g1_i1
6	GO:2000112	regulation of cellular macromolecule biosynthetic process	Biological Process	GO:0031326, GO:0010556, GO:0034645	regulation of cellular biosynthetic process, regulation of macromolecule biosynthetic process, cellular macromolecule biosynthetic process	0.6	1	TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0006351	transcription, DNA-templated	Biological Process	GO:0097659, GO:0010467, GO:0034645	nucleic acid-templated transcription, gene expression, cellular macromolecule biosynthetic process	0.6	1	TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0090501	RNA phosphodiester bond hydrolysis	Biological Process	GO:0016070, GO:0090305	RNA metabolic process, nucleic acid phosphodiester bond hydrolysis	0.6	1	TR14051 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0006355	regulation of transcription, DNA-templated	Biological Process	GO:1903506, GO:2000112, GO:0010468, GO:0006351	regulation of nucleic acid-templated transcription, regulation of cellular macromolecule biosynthetic process, regulation of gene expression, transcription, DNA-templated	1	1	TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0043043	peptide biosynthetic process	Biological Process	GO:1901566, GO:0006518, GO:0043604	organonitrogen compound biosynthetic process, peptide metabolic process, amide biosynthetic process	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1
6	GO:0006401	RNA catabolic process	Biological Process	GO:0016070, GO:0034655, GO:0044265	RNA metabolic process, nucleobase-containing compound catabolic process, cellular macromolecule catabolic process	0.22	1	TR11263 c0_g2_i1
6	GO:0043604	amide biosynthetic process	Biological Process	GO:0044271, GO:0043603	cellular nitrogen compound biosynthetic process, cellular amide metabolic process	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1
6	GO:0016071	mRNA metabolic process	Biological Process	GO:0016070	RNA metabolic process	0.22	1	TR11263 c0_g2_i1
6	GO:0032774	RNA biosynthetic process	Biological Process	GO:0016070, GO:0034654, GO:0009059	RNA metabolic process, nucleobase-containing compound biosynthetic process, macromolecule biosynthetic process	0.22	1	TR3737 c0_g1_i2

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0046395	carboxylic acid catabolic process	Biological Process	GO:0019752, GO:0016054	carboxylic acid metabolic process, organic acid catabolic process	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
6	GO:0019395	fatty acid oxidation	Biological Process	GO:0006631, GO:0034440	fatty acid metabolic process, lipid oxidation	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
6	GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	Biological Process	GO:0031326, GO:0032774, GO:0010556, GO:0051252	regulation of cellular biosynthetic process, RNA biosynthetic process, regulation of macromolecule biosynthetic process, regulation of RNA metabolic process	0.36	1	TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	Biological Process	GO:0043436	oxoacid metabolic process	0.08	1	TR16718 c0_g1_i1
6	GO:0009062	fatty acid catabolic process	Biological Process	GO:0006631, GO:0044242, GO:0072329	fatty acid metabolic process, cellular lipid catabolic process, monocarboxylic acid catabolic process	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
6	GO:0006412	translation	Biological Process	GO:0044267, GO:0043043, GO:0010467, GO:0034645	cellular protein metabolic process, peptide biosynthetic process, gene expression, cellular macromolecule biosynthetic process	1	1	TR51223 c0_g1_i1
7	GO:0032787	monocarboxylic acid metabolic process	Biological Process	GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
7	GO:0006402	mRNA catabolic process	Biological Process	GO:0016071, GO:0006401	mRNA metabolic process, RNA catabolic process	0.36	1	TR11263 c0_g2_i1
7	GO:1903506	regulation of nucleic acid-templated transcription	Biological Process	GO:2001141, GO:0097659	regulation of RNA biosynthetic process, nucleic acid-templated transcription	0.6	1	TR3737 c0_g1_i2
7	GO:0006635	fatty acid beta-oxidation	Biological Process	GO:0009062, GO:0019395	fatty acid catabolic process, fatty acid oxidation	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
7	GO:0097659	nucleic acid-templated transcription	Biological Process	GO:0032774	RNA biosynthetic process	0.36	1	TR3737 c0_g1_i2
7	GO:0090503	RNA phosphodiester bond hydrolysis, exonucleolytic	Biological Process	GO:0090501	RNA phosphodiester bond hydrolysis	1	1	TR14051 c0_g1_i1
7	GO:0072329	monocarboxylic acid catabolic process	Biological Process	GO:0032787, GO:0046395	monocarboxylic acid metabolic process, carboxylic acid catabolic process	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
8	GO:0000956	nuclear-transcribed mRNA catabolic process	Biological Process	GO:0006402	mRNA catabolic process	0.6	1	TR11263 c0_g2_i1
8	GO:0033539	fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase	Biological Process	GO:0006635	fatty acid beta-oxidation	1	1	TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-20 (ต่อ) gene ontology biological process ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
9	GO:0000289	nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening	Biological Process	GO:0000956, GO:0000288	nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nuclear-transcribed mRNA catabolic process, deadenylation-dependent decay	1	1	TR11263 c0_g2_i1
9	GO:0000288	nuclear-transcribed mRNA catabolic process, deadenylation-dependent decay	Biological Process	GO:0000956	nuclear-transcribed mRNA catabolic process	0.6	1	TR11263 c0_g2_i1

### ตารางที่ 3-21 gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0003674	molecular_function	Molecular Function			2.53	6	TR11263 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0005488	binding	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	2.41	5	TR11263 c0_g2_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0009055	electron carrier activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	1	1	TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0003824	catalytic activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.2	3	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0005198	structural molecule activity	Molecular Function	GO:0003674	molecular_function	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1
3	GO:0016787	hydrolase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.12	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0097159	organic cyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	2.16	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0043167	ion binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.13	1	TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0003735	structural constituent of ribosome	Molecular Function	GO:0005198	structural molecule activity	1	1	TR51223 c0_g1_i1
3	GO:0016491	oxidoreductase activity	Molecular Function	GO:0003824	catalytic activity	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0051540	metal cluster binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:1901363	heterocyclic compound binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	2.16	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
3	GO:0005515	protein binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	1	1	TR18983 c0_g2_i1
3	GO:0048037	cofactor binding	Molecular Function	GO:0005488	binding	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-21 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Node score	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0048038	quinone binding	Molecular Function	GO:0048037	cofactor binding	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0016645	oxidoreductase activity, acting on the CH-NH group of donors	Molecular Function	GO:0016491	oxidoreductase activity	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0003676	nucleic acid binding	Molecular Function	GO:1901363, GO:0097159	heterocyclic compound binding, organic cyclic compound binding	3.6	3	TR11263 c0_g2_i1, TR3737 c0_g1_i2, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0043169	cation binding	Molecular Function	GO:0043167	ion binding	0.22	1	TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0016788	hydrolase activity, acting on ester bonds	Molecular Function	GO:0016787	hydrolase activity	0.21	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
4	GO:0051536	iron-sulfur cluster binding	Molecular Function	GO:0051540	metal cluster binding	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0004518	nuclease activity	Molecular Function	GO:0016788	hydrolase activity, acting on ester bonds	0.35	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0046872	metal ion binding	Molecular Function	GO:0043169	cation binding	0.36	1	TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0051539	4 iron, 4 sulfur cluster binding	Molecular Function	GO:0051536	iron-sulfur cluster binding	1	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0016649	oxidoreductase activity, acting on the CH-NH group of donors, quinone or similar compound as acceptor	Molecular Function	GO:0016645	oxidoreductase activity, acting on the CH-NH group of donors	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0048039	ubiquinone binding	Molecular Function	GO:0048038	quinone binding	1	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0003677	DNA binding	Molecular Function	GO:0003676	nucleic acid binding	1	1	TR3737 c0_g1_i2
6	GO:0046914	transition metal ion binding	Molecular Function	GO:0046872	metal ion binding	0.6	1	TR14051 c0_g1_i1
6	GO:0004527	exonuclease activity	Molecular Function	GO:0004518	nuclease activity	0.58	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-21 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Node score	#Seqs	Sequence Names
6	GO:0004540	ribonuclease activity	Molecular Function	GO:0004518	nuclease activity	0.35	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
6	GO:0004174	electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase activity	Molecular Function	GO:0016649	oxioreductase activity, acting on the CH-NH group of donors, quinone or similar compound as acceptor	1	1	TR16718 c0_g1_i1
7	GO:0008270	zinc ion binding	Molecular Function	GO:0046914	transition metal ion binding	1	1	TR14051 c0_g1_i1
7	GO:0008408	3'-5' exonuclease activity	Molecular Function	GO:0004527	exonuclease activity	0.36	1	TR11263 c0_g2_i1
7	GO:0008409	5'-3' exonuclease activity	Molecular Function	GO:0004527	exonuclease activity	0.6	1	TR14051 c0_g1_i1
7	GO:0004532	exoribonuclease activity	Molecular Function	GO:0004527, GO:0004540	exonuclease activity, ribonuclease activity	0.58	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
7	GO:0016796	exonuclease activity, active with either ribo- or deoxyribonucleic acids and producing 5'-phosphomonoesters	Molecular Function	GO:0004527	exonuclease activity	0.58	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
8	GO:0004534	5'-3' exoribonuclease activity	Molecular Function	GO:0016896, GO:0008409	exoribonuclease activity, producing 5'-phosphomonoesters, 5'-3' exonuclease activity	1	1	TR14051 c0_g1_i1
8	GO:0000175	3'-5'-exoribonuclease activity	Molecular Function	GO:0016896, GO:0008408	exoribonuclease activity, producing 5'-phosphomonoesters, 3'-5' exonuclease activity	0.6	1	TR11263 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-21 (ต่อ) gene ontology molecular function ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	NodeSc	#Seqs	Sequence Names
8	GO:0016896	exoribonuclease activity, producing 5'-phosphomonoesters	Molecular Function	GO:0004532, GO:0016796	exoribonuclease activity, exonuclease activity, active with either ribo- or deoxyribonucleic acids and producing 5'-phosphomonoesters	0.96	2	TR11263 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1
9	GO:0004535	poly(A)-specific ribonuclease activity	Molecular Function	GO:0000175	3'-5'-exoribonuclease activity	1	1	TR11263 c0_g2_i1

ตารางที่ 3-22 gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
1	GO:0005575	cellular_component	Cellular Component			2.57	6	TR11674 c0_g2_i1, TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR32997 c0_g1_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0044425	membrane part	Cellular Component	GO:0005575, GO:0016020	cellular_component, membrane	0.85	2	TR11674 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0044464	cell part	Cellular Component	GO:0005623, GO:0005575	cell, cellular_component	2.88	4	TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0043226	organelle	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.51	3	TR51223 c0_g1_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0005576	extracellular region	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.36	1	TR32997 c0_g1_i1
2	GO:0044422	organelle part	Cellular Component	GO:0043226, GO:0005575	organelle, cellular_component	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0044421	extracellular region part	Cellular Component	GO:0005576, GO:0005575	extracellular region, cellular_component	0.6	1	TR32997 c0_g1_i1
2	GO:0005623	cell	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	1.73	4	TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0016020	membrane	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.56	2	TR11674 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
2	GO:0032991	macromolecular complex	Cellular Component	GO:0005575	cellular_component	0.22	1	TR51223 c0_g1_i1
3	GO:0044446	intracellular organelle part	Cellular Component	GO:0044422, GO:0043229, GO:0044424	organelle part, intracellular organelle, intracellular part	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 4-22 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:1990904	ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:0032991	macromolecular complex	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1
3	GO:0031300	intrinsic component of organelle membrane	Cellular Component	GO:0031224, GO:0044422, GO:0031090	intrinsic component of membrane, organelle part, organelle membrane	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0031975	envelope	Cellular Component	GO:0044464	cell part	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0044424	intracellular part	Cellular Component	GO:0044464, GO:0005622	cell part, intracellular	0.79	3	TR51223 c0_g1_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0043227	membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	0.49	2	TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0043228	non-membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043226	organelle	0.36	1	TR51223 c0_g1_i1
3	GO:0043229	intracellular organelle	Cellular Component	GO:0043226, GO:0044424	organelle, intracellular part	0.8	3	TR51223 c0_g1_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0044455	mitochondrial membrane part	Cellular Component	GO:0031966, GO:0044425, GO:0044429	mitochondrial membrane, membrane part, mitochondrial part	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0005622	intracellular	Cellular Component	GO:0044464	cell part	4.48	4	TR51223 c0_g1_i1, TR18983 c0_g2_i1, TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
3	GO:0005615	extracellular space	Cellular Component	GO:0044421	extracellular region part	1	1	TR32997 c0_g1_i1
3	GO:0031224	intrinsic component of membrane	Cellular Component	GO:0044425	membrane part	1.33	2	TR11674 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1



ตารางที่ 3-22 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

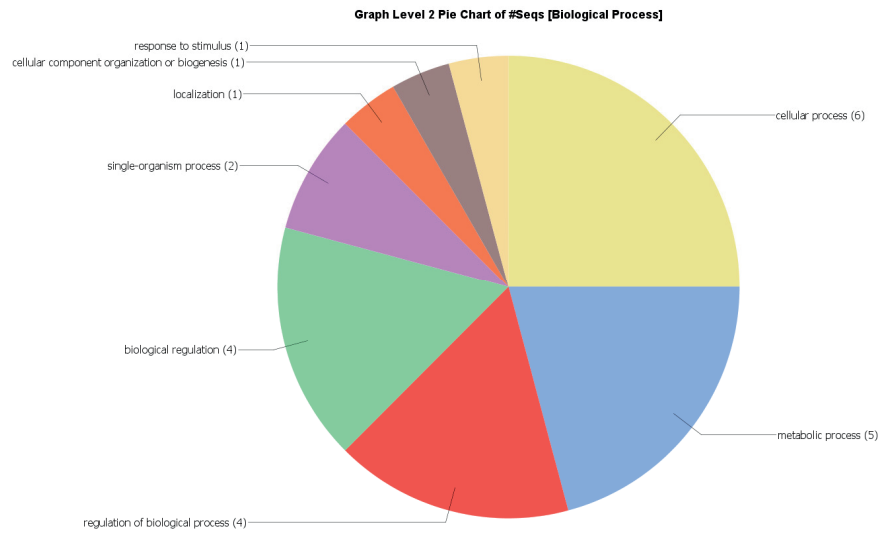
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
3	GO:0031090	organelle membrane	Cellular Component	GO:0043227, GO:0016020, GO:0044422	membrane-bounded organelle, membrane, organelle part	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0031301	integral component of organelle membrane	Cellular Component	GO:0016021, GO:0031300, GO:0031090	integral component of membrane, intrinsic component of organelle membrane, organelle membrane	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0044429	mitochondrial part	Cellular Component	GO:0005739, GO:0044446, GO:0044444	mitochondrion, intracellular organelle part, cytoplasmic part	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0019866	organelle inner membrane	Cellular Component	GO:0031967, GO:0031090, GO:0044424	organelle envelope, organelle membrane, intracellular part	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0030529	intracellular ribonucleoprotein complex	Cellular Component	GO:1990904, GO:0044424	ribonucleoprotein complex, intracellular part	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1
4	GO:0016021	integral component of membrane	Cellular Component	GO:0031224	intrinsic component of membrane	2.22	2	TR11674 c0_g2_i1, TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0043232	intracellular non- membrane-bounded organelle	Cellular Component	GO:0043228, GO:0043229	non-membrane-bounded organelle, intracellular organelle	0.6	1	TR51223 c0_g1_i1
4	GO:0044444	cytoplasmic part	Cellular Component	GO:0005737, GO:0044424	cytoplasm, intracellular part	0.73	2	TR51223 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-22 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

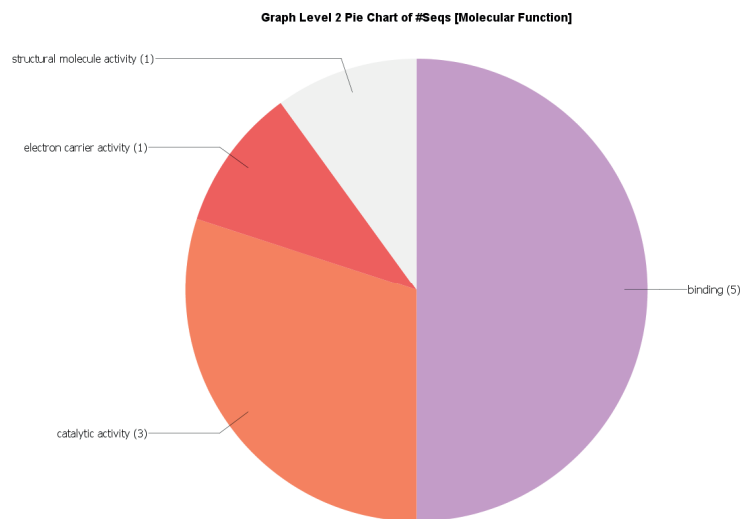
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
4	GO:0031967	organelle envelope	Cellular Component	GO:0043227, GO:0044446, GO:0031975	membrane-bounded organelle, intracellular organelle part, envelope	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0031966	mitochondrial membrane	Cellular Component	GO:0005740, GO:0044429, GO:0031090	mitochondrial envelope, mitochondrial part, organelle membrane	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0098573	intrinsic component of mitochondrial membrane	Cellular Component	GO:0031966, GO:0031300, GO:0044455	mitochondrial membrane, intrinsic component of organelle membrane, mitochondrial membrane part	0.36	1	TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0005737	cytoplasm	Cellular Component	GO:0044424	intracellular part	0.44	2	TR51223 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
4	GO:0043231	intracellular membrane- bounded organelle	Cellular Component	GO:0043227, GO:0043229	membrane-bounded organelle, intracellular organelle	0.68	2	TR14051 c0_g1_i1, TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0005739	mitochondrion	Cellular Component	GO:0043231, GO:0044444	intracellular membrane- bounded organelle, cytoplasmic part	0.13	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0031304	intrinsic component of mitochondrial inner membrane	Cellular Component	GO:0098573, GO:0005743	intrinsic component of mitochondrial membrane, mitochondrial inner membrane	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0005840	ribosome	Cellular Component	GO:0030529, GO:0043232, GO:0044444	intracellular ribonucleoprotein complex, intracellular non- membrane-bounded organelle, cytoplasmic part	1	1	TR51223 c0_g1_i1

ตารางที่ 3-22 (ต่อ) gene ontology cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

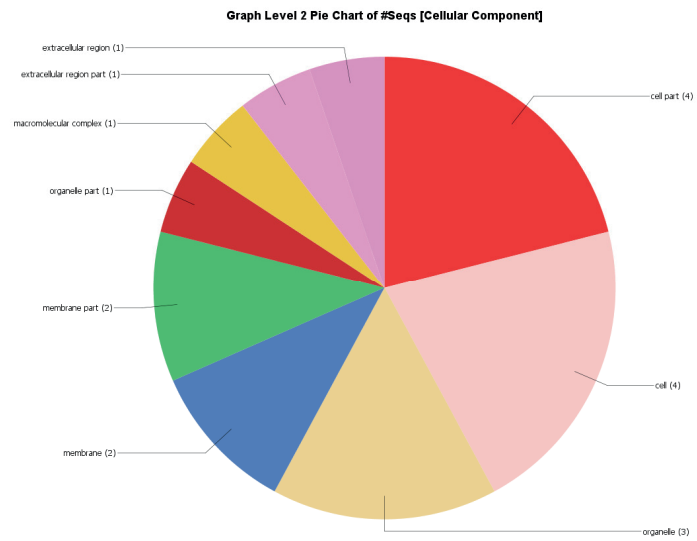
Level	GO ID	GO Name	GO Type	Parents (ACC)	Parents (Name)	Nodescore	#Seqs	Sequence Names
5	GO:0005743	mitochondrial inner membrane	Cellular Component	GO:0031966, GO:0019866	mitochondrial membrane, organelle inner membrane	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0032592	integral component of mitochondrial membrane	Cellular Component	GO:0031966, GO:0031301, GO:0098573	mitochondrial membrane, integral component of organelle membrane, intrinsic component of mitochondrial membrane	0.6	1	TR16718 c0_g1_i1
5	GO:0005634	nucleus	Cellular Component	GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	1	1	TR14051 c0_g1_i1
5	GO:0005740	mitochondrial envelope	Cellular Component	GO:0044429, GO:0031967	mitochondrial part, organelle envelope	0.22	1	TR16718 c0_g1_i1
6	GO:0031305	integral component of mitochondrial inner membrane	Cellular Component	GO:0032592, GO:0031304, GO:0005743	integral component of mitochondrial membrane, intrinsic component of mitochondrial inner membrane, mitochondrial inner membrane	1	1	TR16718 c0_g1_i1



ภาพที่ 3-17 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน biological process ในกลุ่มที่ 2/2



ภาพที่ 3-18 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน molecular function ในกลุ่มที่ 2/2



ภาพที่ 3-19 องค์ประกอบหน้าที่ของ transcripts ในส่วน cellular component ในกลุ่มที่ 2/2

### 3.3 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์เต็มยีนในรังไข่กึ่งตัดแทนทางจุด

#### 3.3.1 ยีนไวเทลโลเจนิน

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์เต็มยีนของยีนไวเทลโลเจนิน และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของชนิดอื่นจากรังไข่กึ่งตัดแทนทางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี blastX พบว่ามีความคล้ายกับยีน vitellogenin ในกึ่งตัดแทน *Oratosquilla oratoria*, ในปูม้า *Portunus trituberculatus*, ในปูขาว *Scylla paramamosain*, ในปูสีน้ำเงิน *Callinectes sapidus*, ในกุ้งแชบ๊วย *Fenneropenaeus chinensis*, ในกุ้งครุมา *Marsupenaeus japonicus*, ในกุ้ง *Palaemon carinicauda*, ในกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*, ในกุ้งแดง *Pandalus hypsinotus*, ในกุ้ง *Pandalopsis japonica* ดังตารางที่ 3-23

ตารางที่ 3-23 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี blastX

Description	Max score	Total score	Query cover	E-value	Identity
vitellogenin [ <i>Oratosquilla oratoria</i> ]	1999	1999	97%	0.0	45%
vitellogenin [ <i>Portunus trituberculatus</i> ]	674	674	96%	0.0	25%
vitellogenin [ <i>Scylla paramamosain</i> ]	673	673	96%	0.0	25%
vitellogenin [ <i>Callinectes sapidus</i> ]	659	659	96%	0.0	25%
vitellogenin [ <i>Fenneropenaeus chinensis</i> ]	753	753	77%	0.0	27%
vitellogenin [ <i>Marsupenaeus japonicus</i> ]	667	832	73%	0.0	36%
vitellogenin [ <i>Palaemon carinicauda</i> ]	659	659	76%	0.0	27%
vitellogenin [ <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ]	660	660	74%	0.0	28%
vitellogenin [ <i>Pandalus hypsinotus</i> ]	751	808	87%	0.0	29%
vitellogenin [ <i>Pandalopsis japonica</i> ]	722	722	78%	0.0	28%

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกึ่งตัดแทนทางจุด พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 7,667 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 2,555 กรดอะมิโน โดยยีน Vitellogenin มี ตำแหน่งอยู่ในโดเมน LPD\_N มีค่า E-value เท่ากับ  $1.07e-9$ , DUF1943 มีค่า E-value เท่ากับ  $2.25e-51$  และ VWD มีค่า E-value เท่ากับ 0.00141 ดังตารางที่ 3-24 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-20

ตารางที่ 3-24 โดเมนที่พบบนยีนไวเทลโลเจนินที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
Signal peptide	1	20	N/A
LPD_N	39	589	$1.07e-9$
DUF1943	621	935	$2.25e-51$
VWD	2310	2465	0.00141

```

-24: -----tggtggtgtctccagacagacatc :0
1: ATGGCGCGAACACTCCTCCTTCTCGTACGACCTTTTGCCTTGCCTTGACTGCCAATGCA :60
M A R T L L L L V T T F C L A L T A H A
61: GATCTTCCGCGGTGTTCTGTGCGAGTGCCCGGTAGTCGGAATCACAACTCGGTACGTC :120
D L P R C S V E C P V V G N H K L G Y V
121: CCAGGACAGAGGTACCTCTACAACAGAGTGGCGAATCTTCCCTTTGGTATGGCAGTGTG :180
P G Q R Y L Y K Q S G E S S L W Y G S V
181: CAGGGAAGCCAAACGGACATGAAATGGAGCTCCATAGTGAACGTGCGGTGCTCACACCC :240
Q G S Q T D M K W S S I V E L S V L T P
241: TGCGACGTGGCCATCACCATCAAGGAGTTCCAAATGAACGGGAAGACTCAAGCGCAGTG :300
C D V A I T I K E F Q M N G K D S S A V
301: CCAGAGTTGGCCGAGGTGTCTGAGCGTCCCCTCATTATGGCCATTAGCGATGGGAAGGTG :360
P E L A E V S E R P L I M A I S D G K V
361: CAGCACGTGTGTGTCGATCCTGAGGACAACACGTGGGCGTCAACGCCAAGATGAGTGTG :420
Q H V C V D P E D N T W A V N A K M S V
421: GCCTCTTATCTCCAGAACACTCTCCCATCCTTCTCGGAAATCAACAAGGAAACCATCATC :480
A S Y L Q N T L P S F S E I N K E T I I
481: ACTGAGAGAGACATCCAAGGCAAGTGCCTACCAACTACACCTGACCTCCACTTCTCAA :540
T E R D I Q G K C T T N Y T L T S T S Q
541: AGTGTGTACACGTAGTTAAGCAGAAGGACAACAAGAGATGCGAGGACCGTTACTACCAG :600
S D V H V V K Q K D N K R C E D R Y Y Q
601: CCGTCTGAGACAAGCAACAACCTGCCGTGGCTCAACATGCCTTCTCCTTTGAAGTGTCC :660
P S E T S N N L P W L N M P L P L E V S
661: AATTCAACTTGCACCAAACCATCAAGAATGGCATCTACACTTCCGTCATGTGTACCGAC :720
N S T C H Q T I K N G I Y T S V M C T D
721: GTCAACGTCTCAAGCCCATGTACGGGTCTACCAAAATGTCACGACAAAACAGAAGTCC :780
V N V L K P M Y G V Y Q N V T T K Q K S
781: ACCCTTCAATTCCAATCCAAGTCCAGGTCCAGTCCAGCCCTCCTCAAATCTCTTCCAAT :840
T L Q Q F Q S K V Q V D P A L L K F S S N
841: CATCTGGTCAAGAAACAACCTCAAGTTCGACTATACCACACCCAAGAAGACCAGCGACGTT :900
H L V K K Q L K F D Y T T P K K T S D V
901: CTACCCAAACTGGAGAAGCTCCTCAAACAAATTTCCACAATGTCCAGGAATCTGTGCAA :960
L P K L E K L L K Q I S H N V Q E S V E
961: CCTGAAGCAGCCTCCCTTGTCCATCAGGTGATGATTCTGCTCCGCCACGCACCAGACTCC :1020
P E A A S L V H Q V M I L L R H A P D S
1021: CAATTACAGTATTCTCCAGAATATTCCGAGCGGTGCTACGGCCACAACACGCAAAAC :1080
Q L Q V I L Q N I R S G A Y G H N T Q N
1081: CTCGAACACATCTACCTTGTGCTCTCACCTTCCCTTCGTGAGCCTGGAGTCTGCCCCGTC :1140
L E H I Y L D A L T F L R E P G V V P V
1141: ATGGTGCAGGAAATCTCGCAAGGAAAGCCTCCGTTGCAAGAACTGCCTCTACGCCATG :1200
M V Q E I S Q G K A S V A R T A L Y A M
1201: GCCATGCACCTCTTGGCGCTCCCAATATCTTTGCCATCGAGTCTGCTGGTCCCTCTCTTC :1260
A M H L L P R P N I F A I E S L V P L F
1261: CAGATGTCCCAACCCCAAAACGGTTCTTTTGGCTGCTGCTTCCATGCTCAATACCTAC :1320
Q M S Q P P K T V L L A A A S M L N T Y
1321: CTGCGCAACACCCCTCACCATCAAGAAGAAAACACGTGCAACAGATCATCAGCCTTGTG :1380
L R Q H P H H Q E E N H V Q Q I I S L V
1381: ACCACCAAACTCCAAGCCTGCGCAATGCTGCCACACCCGAGGAACGAGACCATGCCAAG :1440
T T K L Q G L R N A A T P E E R D H A K
1441: CTCCTCTCAAGCTACTTTCCAATGTTGGCTACCTTCCAAGAAGACTGTTTCCGTCGTC :1500
L L L K L L S N V G Y L P K K T V S V V
1501: CAGTCTTTAATTATGGACAAGAGTGTGGACACCTCCATTGCGCTGTTGGCAACCCAGACC :1560
Q S L I M D K S V D T S I R V V A T Q T
1561: TCCAGACATATTCCTGCAAGTGTGGATCACCGAACCTGTGCACCCCTACAATGAT :1620
S R H I P C K L L D H R N L L H P Y N D
1621: ACAGAGGAAAGCACGGAGATTCGGATCGCCTCGTACCTAAGTGCCATTGCTGTGTCACC :1680
T E E S T E I R I A S Y L S A I R C V T

```

ภาพที่ 3-20 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกิ้งกักแดนทางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ VWD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation

1681: AACATGACGGAATTAACCAAATAGTCCAGCGTGAATTAACGAAACCAACATCCAGGTG :1740  
 N M T E L N Q I V Q R V I N E T N I Q V

1741: CGCAGTCTGGTCATCACTCATCTGACC AACCTTCAGGAGACCAGTTTCGCCCCACAAGGAC :1800  
 R S L V I T H L T N L Q E T S S P H K D

1801: CATCTTCGTTATCTCCTATCTACCACCGTTCTCCCAACTGACTATGCTGCGGACATCAGA :1860  
 H L R Y L L S T T V L P T D Y A A D I R

1861: AAGTTCTCCAGAAACACAGAGCTCTCTTACTTCTCCGCACCTTAGGCTTGGGAGCCGAA :1920  
 K F S R N T E L S Y F L R T L G L G A E

1921: ATCGAGTCGAACCTCGTCTACTCACGTGAGGCGGTCTTCTCGCTCTCTCAACATGAAC :1980  
 I E S N L V Y S R E A V L P R S L N M N

1981: GTGACACTCGACCTCCCGGAAATATGCTCAACGTGGCGGAAGTAGGTGCAAGACTGGAA :2040  
 V T L D L L G N M L N V A E V G A R L E

2041: GGCCTCAATTCACCTTGTGGAGGGAGTATTTGGTCCCGAAGGCTACTTGACGTCCACCCCT :2100  
 G F N S L V E G V F G P E G Y L T S T P

2101: TGGGATCAGGTGTGAGAGACATCAACCCCTTGGTGAAGAGGGACGATCCAACGTAGTA :2160  
 W D Q V L R D I N P F G E E G R S N V V

2161: GAGATTGTCAACCAAATACTGAGTAGGACAAACAGCGGGTCTCTCGTCGCGGAAATTAAG :2220  
 E I V N Q I L S R T N S G S S S S E I K

2221: AGTTTCTCGAGAACAAGTGCCTCTCGTCAACGACGAGAAAACGTCACCCGAGATTGAC :2280  
 S F L E N K V R S R Q H E K T S P E I D

2281: CTGTACTTCGCCTCTTTGGTCAAGAGGTCTCTTTGCTTCTCTCACCTCTGATGTCCTC :2340  
 L Y L R L F G Q E V S F A S L T S D V L

2341: CGACTCTCCAGCAAAAGCTCTCCACCCTCTCTTCCATCTGACCTCATCACTTTTCATC :2400  
 R L L Q Q K L S T T S L P S D L I T F I

2401: GAGAAGGAGGTCTCTCTACCTGGCCGACACCCAACATAACATGGTCAGGGCTCTTCCC :2460  
 E K E V L S Y L A D T Q L N M V R A L P

2461: ATCAACTTGGAAATACACTATCCCCACCATGCAAGGTATTCCCCTCGACCTCTCCCTGAGC :2520  
 I N L E Y T I P T M Q G I P L D L S L S

2521: GGTGCCGAGTTCTCGGCCTCAACTCAACTTCCACAGTCCGACCTCTCGGCCGACAACCC :2580  
 G A A V L G L N S T S T V D L S A D N P

2581: AGGGGGCCCGTCAAAGCTGTACCAAGCTTATCTCTTCAACTGGAGGGCTTTGTGGGCTTC :2640  
 R G A V K A V P S L S L Q L E G F V G F

2641: AAGTCAATAATCAGACACGGCATCAAGATGGAGAACAAGCTACACACCTCCAACGGAGGA :2700  
 K S I I R H G I K M E N K L H T S N G G

2701: CGTGTGGAAGTCGATGTCAGAAAGGAAAACCTGTCAAGATCCAGTGGACCCCATTACCA :2760  
 R V E V D V Q K G K L V K I Q W T P L P

2761: CATAAAGTCAACCTGCTTACTTCAACAGCCAGACGAACTTGGTCAAGGAATGGAGTCCA :2820  
 H K S N L L Y F N S Q T N L V K E W S P

2821: GTGCTGCACAAAACAACCAACAATCATTCTCTCAGCCTCAGGGAGACGTCTCTCCC :2880  
 V L H K Q P Q Q I I L P Q P Q G D V S P

2881: TTCAAGTGGACAAGTGCCTTACCCGCTACAGCAGGATCTTGGTTATCGAATCTGCTTT :2940  
 F K V D K C L D R L Q Q D L G Y R I C F

2941: AATGCCAATTCCTCCGATCTCATTCCGAGTACTTCCGTACCCTTCGGTCAACCCATCCAG :3000  
 N A N F P D L I R S T S V P F G Q P I Q

3001: GTCAACATCACTGCAGAAAAGACTGGAACACTCGACAAAGCTTTAGCTTAAACGGTATG :3600  
 V N I T A E K T G T L D K A F S L T V L

3611: ACTACTGGACAAAATGACCACAAGGATATCTCCCTTGTCTTGGAGACTCCTGGTCAGGCC :3120  
 T T G Q N D H K D I S L V L E T P G Q A

3121: GTAGCCAAGGCTAACTATAGAAACAAGAAGACTCAAACATAATCTCCGTGTCCATCAGC :3180  
 V A K A N Y R N K E D S N I I S V S I S

3181: TCCTCTGTCTTGAAGTATTCTGTGAGAGCCGACTTATCGTCAGTGACAAGATCGAGCTC :3240  
 S S V L K Y S V E S R L I V S D K I E L

3241: ATTGTCCATAGTAGCCCTACTTTCGACTCAAAACCCACTACTCTGCCTTACAACCTTCTT :3330  
 I V H S S P T F D S K P T T P A L Q L L

3301: TGGATTTCTCGCAATTCGAAGGAATACATCCTGAAAGCTAGAACGGAAAACGATTGAGG :3360  
 W I S R N S K E Y I L K A R T E N D L R

ภาพที่ 3-20 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกิ้งก่าเตนหางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ WVD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation



3361: AAAATCATTGAGTTGGACGCTGATGTTGCCATCAAAATGAGTTATGAACCTACAGCTTT :3420  
K I I Q L D A D V A I K M S Y E P Y S F

3421: ATCCCAAGTGCTGTCATGGTACACAAATGGATGGTATATGGCAAGGTGCTCACTGGGAA :3480  
I P S A V M V H K W M V Y G K V S H W E

3481: CTGCGTCAACAAGTGGAACTTCATCAGATATAACAGATTTCCAGTTAAGCTAAGCAAG :3540  
L R Q Q V E T S S D I T D F Q F K L S K

3541: AAAGGAATACCCCAAATTGACATTTTCAGTCAAGAAGACACCAATTCATTTACGATTGAC :3600  
K G I P Q I D I S V K K T P I H F T I D

3601: GGTTATACTGCAGTCACCCCTTTGGAACACAGGTATCAAGTCCATAGTTGCACTACATCTT :3660  
G Y T A V T L W N T G I K S I V A L H L

3661: AATGACAAGGGAGTAAACGCCACCTGGGACGTCCTCAATACAAGTCCACCGAGAAAGTT :3720  
N D K G V N A T W D V L N T R S T E K V

3721: TTATATGCATCGGCTCTGGTCAAGAGCAGGGCAAGTCTCCTACGACTACCAC :3780  
L Y A S A L V T R Q E Q G K V S Y D Y H

3801: ATTCAAATACACATACCCAGCGCACTGGATAAGGTCGACATCGAGGGTCGCATCGAAAAG :3840  
I Q I H I P S A L D K V D I E G R I E K

3841: GAGGACAGTTCCAAGTATCACGTCGAAGGAAAACCAAGTACCAGAACCAAATCATATAC :3900  
E D S S K Y H V E G K T K Y Q N Q I I Y

3901: ACAATCGGTGGTCTATCACACTAGATGTAACCGGGAAGAGTGATGTAATCTTGAGATC :3960  
T I G G P I T L D V T G K S D V N L E I

3961: ACCGGGTCAGCCATCGCTCATACAAATTCATTGGTCAACTCGAGAATTCCGAGAAGAAA :4020  
T G S S H R S Y K F I G Q L E N S E K K

4021: TTGATCICCGTTGTCGTGCAAAACCCCTGACAACCCATTTTCAAGGCTGAGATCGAGAGC :4080  
L I S V V V Q N P D N P I F K A E I E S

4081: GTTCCAAAGAGTGATGGTGGTAATCTCATTCTAACGGCACTTGAAATCCCCTCACTCATA :4140  
V P K S D G G N L I L T A L E I P S L I

4141: AAGACTAAGATCAGCTTCCATCAGTCCAGGGATATCATCGACGCTACATTTACAATAAC :4200  
K T K I S F H Q S R D I I D V Y I Y N N

4201: CTCTTCCCTGAGGGACAGTACGAACAACAATCAAAGGATCCTACAGTCACAGCTTTGTG :4260  
L F P E G Q Y E Q T I K G S Y S H S F V

4261: GAGAATAAGGTCACGTCCAATTTCTCTGGAACCCAGGAGTGGTGACCCACTGGAGATC :4320  
E N K V T S N F L W K T R S G D P L E I

4321: AACTTGGAGACGAAATACGTTTTAGAGAAAGGTCTCCTTTACCCTGCGCGGTGACTTG :4380  
N L E T K Y V L E K G A P F T L R G D L

4381: GTTTGAAATGGCAGATCCCATGGCTACAACACAAAAATGACATCTCCATCCTTCTATG :4400  
V L N G R S H G Y N T K I D I S I L P M

4401: TTTGAGGGTCAAAATAAAATCAACTTTTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT :4500  
F E G Q N K I N F V W T T A T G K G F E

4501: ATGTGCGTAACTTGGACAAGAAAATCCTTCTCAGAAACACTCCCTGACTGGCTCACTT :4560  
I V A N L D K K I L P Q K H S L T G S L

4561: CACCTGAAGACCGTTACGACAATGACTACACTCTGACAGGAAAATACGAGCTGGAACGC :4620  
H L K T V H D N D Y T L T G K Y E L E R

4621: CTACTAGGACCAAGGGAATCAACTACAGGCAACATTGATCTGATATGCCCTCAAAC :4680  
L L G P R E Y Q L Q A N I D L I C P Q T

4681: CAGGCCACAATCAGTGTCACTGACAAGAAGACCGGACGTGAGAGAAACGTACAGATTACA :4740  
Q A T I S V T D K K T G R E R N V Q I T

4741: ATGGACATTCCAAGAGCGAGGTGAAAGCTTACGTCTTGGGCGTGGTAAACGACAAGCGAC :4800  
M D I P K S E V K A Y V L G V V T T S D

4801: TTTAAACAAGATCGACGTCAAACATGCATCCGAGCAGCAGATCTTGATCGAGTCCCAT :4860  
F K T K I D V K H A S E Q Q I L I E S H

4861: GGTGAGATAGCGTCCCATGGACTGGAAGTCAAGTCTGGAGAGTTGAATGTTGACCTT :4920  
G Q I A S H G L E L I K S G E L N V D L

4921: AAACACTCTTTCAAATGAGCAAGCTACTTCAGGTCAAGTCTCGAAAGAATGAAGACGGA :4980  
K L P F Q M S K L L Q V K S R K N E D G

ภาพที่ 3-20 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนนินในรังไข่ของกิ้งกักเตนทางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ VWD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation

4981: TCCATGCATGCTCATATCTACATGGAACCCAAACGTTGGAAGATCAACGTTCCGAAGTCA :5040  
S M H A H I Y M E P K R W K I N V R K S  
5041: ACCACACATGTAGTTGACGTGGAGGTCGAAACACCTTCCCGTACTTTGGAGGCTAAGGTT :5100  
T T H V V D V E V E T P S R T L E A K V  
5101: ACCTTGGACTCCTCAAACCCGTCTCTCCAACCTCTGGCCCAACAAGGGAAAAAGTCAAGAT :5160  
T L D S S N P S L Q L W P N K G K S Q D  
5161: AACATCGAAATTTCCGCTAAAGTCAGCCAAACCAACGGAAGAACAATCAGGTGCTTACA :5220  
N I E I S A K V S Q T K R K N N Q V L T  
5221: ATTGACGGCAAGTTCAAAGTCTCACAACCTGAACAAGGAAATACTGGTGTCCGCCGAATAC :5280  
I D G K F K V S Q L N K E I L V S A E Y  
5281: ACCAACCTACATCAGAACTATCTGGTTACCTCGAGTTGAAAACCCACAGAGCTCACAG :5340  
T N S T S E L S G Y L E L K T P Q S S Q  
5341: GGTCTTATCCTTCTTACTCTGCGAGGAAAGAAAGATCATGGAATTCATGCAAATGTCTCC :5400  
G L I L R G K K D H G I H A N V S  
5401: TTATCATTGAAGGGATCAGCAACTACTCAGCCAATCCGTGCTCAAATAGTTTGACAAAT :5460  
L S L K G S A T T Q P I R A Q I V W T N  
5461: TCAACCAAGGCCATCGTCTCCACTCCAGACAAAGGAAGTGGCTGCTTTGAAATACCAA :5520  
S T K A I V L H S Q T K E V A A L K Y Q  
5521: CAAATTGTCCCTGAGGAAGCCTCACTGTGGGCCAGGTTGAAGACATCCACCATCGACACA :5580  
Q I V P E E A S L W A R L K T S T I D T  
5581: GAAGTCTCCACCATTTACGAGCCGAGAAGACATCATACTGCCATGGACTCAACATACAC :5640  
E V S T I L R A E K T S Y C H G L N I H  
5641: TACGTACAACCTGGTAACCTTTCAAGAAGAGCCACGACAATAACCAGAGAATGTACGTCAGC :5700  
A N Y K L H S H K Y Q T I A R L C N P A  
5701: CTAGGGATGAAGAGTCTTATGAAATCGAATTGGATCTCCATGTCGAAAAGCCCGGCAAG :5760  
Y V Q L V T F K K S H D N N Q R M Y V S  
5761: AACCTTCTCAAAGATATGCTGATGTTCTTAGCATCAAGGCTGACGTGATGACACCCAGA :5820  
L G M K S P Y E I E L D L H V E K P G K  
5821: ATCGTCGACCTGCTTGTACATTATGACACTGAGGCCATTAAACAGATCAAGCCTCAACTA :5880  
N L L Q R Y A D V L S I K A D V M T P R  
5881: GACATACTCACAACCTCAACTTTACGAATCGTGGCACTCCATTGTCCAGGAGCTACGAGAA :5940  
I V D L L V H Y D T E A I K Q I K P Q L  
5941: CATGAGATCTACCAGAGCTTAAAGTTGCTTGGAGTTGACATTATTTACCAAAGCATCAGC :6000  
D I L T T Q L Y E S W H S I V Q E L R E  
6001: AAGGAAATGTACGACATCTCCGAAGATCTTACAAGGATAATCTGATTCCCAATCCAGAT :6060  
H E I Y Q S L K L L G V D I I Y Q S I S  
6061: GACATCTACGTTTTTGTAACTGAGACTTACACATACTATGTGGACATAATAGTAGATATT :6120  
K E M Y D I S E D L H K D N L I P N P D  
6121: TTCGGAAATTACCAACTCGATTTTCGCGCAAATTTGAAAGAATTGAAGAGAGTTCTGCTT :6180  
D I Y V F V T E I Y T Y Y V D I I V D I  
6181: CAACTAAGGGAACATACAAGCAGGACCGCCTCACGCCACATGAGGTGCTTGAATACTC :6240  
F G N Y Q L D F A Q I L K E L K R V L L  
6241: TCACATATCCTGCCTTTGGAAGAGGTGAAGGAATTCATAGCACACTTCAAAGAAGAACAT :6300  
Q L R E L Y K Q D R L R T P H E V L E I L  
6301: CCCGAGGTGTATCAGAATATCACCTATGTCTGGAAACCTTGAAAAAGGTACTTGGACAG :6360  
S H I L P L E E V K E F I A H F K E E H  
6361: TTGTTGCCCTGGAAAAAGACGTCGGGAGAACCAGGAACCTTACTCAGAAGAATACCAGCAG :6400  
P E V Y Q N I T Y V W E T L K K V L G Q  
6421: CTGTACGAAAGCATCTTCAACACTTTGAACACGATAACCACACCACTTATCCAGAAGGC :6480  
L L P W K K T S G E P G T Y S E E Y Q Q  
6481: ATACTGAAACACATTGAGAACCTTACCCTGAGATGTATACAGCACTTCCACATGTCGTG :6540  
L Y E S I F N T L N T I T T P L Y P E G  
6541: TTGAAGATTCTTGATAGCATCAAGCAAGATGCTCATCACCTCATCAAGACCTCACCTCTC :6600  
I L K H I E N S Y P E M Y T A L P H V V  
6601: CGCCAAGTTATCGATTGGCTACTTTCATGGCTACAAATTTGACGATGTCCTCAGACGGAT :6660  
L K I L D S I K Q D A H H L I K T S P L

ภาพที่ 3-20 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนนินในรังไข่ของกิ้งกักเตนทางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ VWD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation

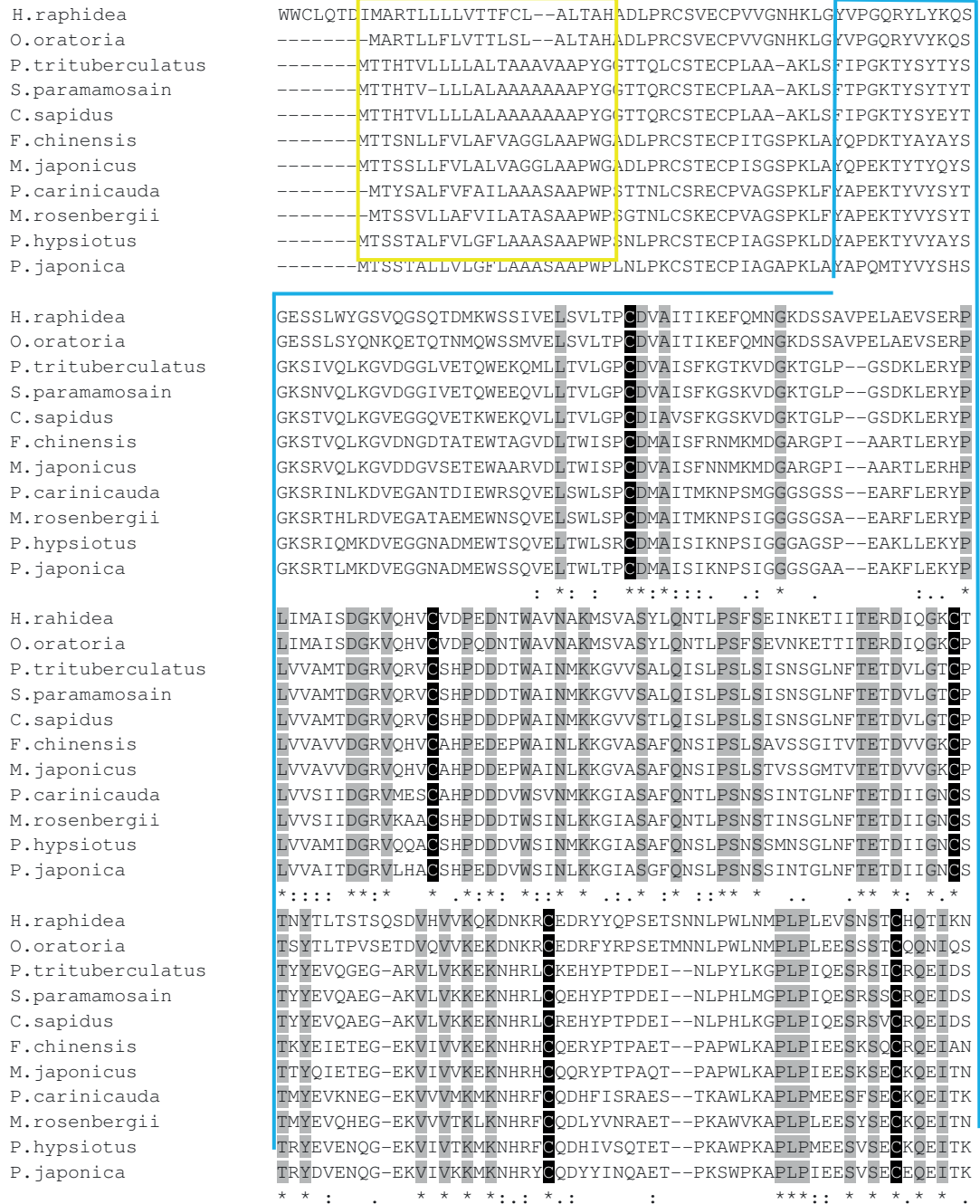
```

6661: GCCCTGATTGACTCCCTTTACCAGCTTCTCCTCAAAACTCCACCGATGATCTATGACTCG :6720
R Q V I D W L L H G Y K F D D V P Q T D
6721: ACGACCGAAAGACAACATACTTGCTTGTTCCTTTCATCTATCCTGAGTATTCTCTGACT :6780
A L I D S L Y Q L L L K T P P M I Y D S
6781: GCAGTTCCTACGGAACACAGCTTCCACTGGACTTGATCTAATCAGGAGGATTATCGGC :6840
T T E R Q L Y L L V P F I Y P E Y S L T
6841: ATACTCCAGAGATCCTCCCCGTAGAGTACAAGCCCTCGATAGGGTCATATCTTCTGTT :6900
A V P Y G T Q L S T G L D L I R R I I G
6901: GCTGTTTACCATGGAGACGGCTACCTGACCACCTTTGATGGGACATCCATCAAGCTGCC :6960
I L Q R I L P V E Y K P L D R V I S S V
6961: GAGTCTCATTGCCAATATATCCTGACAACCTGATGGCTACGACTACGTGGCTGTCACAAAC :7020
A V Y H G D G Y L T T F D G T S I K L P
7021: TTGCCAGGGAATAAGAACGAGTTTGAACCTACTGTTCGAGAATGGACGACACGAGATAGCC :7080
E S H C Q Y I L T T D G Y D Y V A V T N
7081: ATTGACAAGGACTACCAGATTTACATCAACGGCACCAAGAGAACAGAAGAGGAAATTAC :7140
L P G N K N E F E L T V E N G R H E I A
7141: AGCTCCTCGCATCAACTTATTGTTTACCAGAGACCCATGGAAGTAGTTGTCGTTAGCCCA :7200
I D K D Y Q I Y I N G T K R T E E E I H
7201: ACTCTTCAACTGGTCGTACAAAAATGCACCAACCTTCCGTTTGTACGCCAGCACCCGAA :7260
S S S H Q L I V Y Q R P M E V V V V S P
7261: CTCAAGGTCGACTTCAAGGTGTCATGGCCGCCTTCAATGACTCCAAGGAGATGACATA :7320
T L Q L V V Y K N A P T F R L Y A S T E
7321: ATGATGCCCAACGGCCGAATCACACACAATCCCACCGCTTTCCTGAAAAGCTGGCAAGTC :7380
L Q G R L Q G V M A A F N D F Q G D D I
7381: AAACCATCGTGCTGAAACCATCCGATGCTGCCGCGCATCGAATGTGGTGACCAGCTTCT :7440
M M P N G R I T H N P T A F L K S W Q V
7441: TGCCAATCGAACTTGactactcttagatttttaaatggcatgtaaaaaattaactttgtct :XLV
K P S C *
XLVI: taaggaactctagcaagtttccaaaaatatattgatgaaatgcaatcaaatatagcaa :CVI
CVII: atatgaataatcaaaaaaaaaa :CXXII

```

ภาพที่ 3-20 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนนินในรังไข่ของกิ้งกักแดนหางจุดเมื่อผ่านการ blastX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือโดเมน LPD\_N, สีเขียวคือโดเมน DUF1943, สีแดงคือ VWD, สีชมพูคือ Transcription termination signal และสีเทาคือ Polyadenylation

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนจากภาพที่ 3-20 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม Clustalx ได้ผลดังภาพที่ 3-21



ภาพที่ 3-21 การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกักแตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

H. raphidea	GIYTSVMCTDNNVNLKPMYGVYQNVTTKQKSTLQFQSKVQVDPALLK-FSSNHLVKKQLKF
O. oratoria	GLYTSIECTDNLKPMYGVYKHKIKAVQKATLQFESQVEVDPALLT-FSSDHLVKKELKF
P. trituberculatus	GIISSVVQEDKKVIRPSYGIYKYVEAKQESTLKLTSDDVSAPDTISRIGQDELVPRSLRY
S. paramamosain	GIISSVVQEDKKVIRPSYGIYKYVEAKQESTLRLTSSSEASAPDTISRIGQDELVPRSLRY
C. sapidus	GIISSVVQEDKKVIKPSYGIYKYVEAKQESTMKLTSDDVSAPDTISRIGQSELEPRSLRY
F. chinensis	GIYTAITQODKNIVRPAIGIYKYVEASQDSTLRFISEADTSAISG-IPSGELHIESLLY
M. japonicus	GIYTSIMQHDKNIVRPAIGIYQYVEAHQESTLHFISETTDTSAISA-IPRGMHIESLLY
P. carinicauda	GVYTSITQKDKNIIRPAYGSYKYIEAVQESTLRFESSETDNVPPAVS-QLPSRFIRKTLRY
M. rosenbergii	GIYTSITQKDKNIIRPAYGSYKYIEAVQESVLRFQSKTDQIPPSVS-QLPSRFIRKTLRY
P. hypsiotus	GIYTTVSKDKNIIRPAYGSYKYIEAVQESVLRFQSQTDQAPPSIA-RLQGRLVHKSRLRY
P. japonica	GIYTTITQDRTTIIRPAYGSYKYIEAHQESVLRFQSETDQAPPSVA-NLRGPLVWKSRLRY
	*: ::: * * .:::* * *: : : *.: ::: * . : . * :
H. raphidea	DYTPPKKTSVDLPKLEKLLKQISHNVQESVEPEAASLVHQVMILLRHAFDSQLQVILQNI
O. oratoria	DFTTPKKRDTVVPRLDAITKDIKAKVENTVESETAALVYHGMLTLRHAFDSHVKAILDNI
P. trituberculatus	DYEPAKKDPFLVPELEQTLRYLCEITRDGVEADTAAQLKAVNLMRRIPEQSFNDIYTKV
S. paramamosain	DYETAKKDPFLVPELEQTLRYLCEITTDGVEAHHAAQLSKAVHLMRLIPEQGFNEIYTKM
C. sapidus	DYETAKKDPFLVPELEQTLRYLCEITRDGVEADTAAQLNKAVHLMRLIPEQGFNDIYTKV
F. chinensis	NHETM-KDPQLAPELDELMEICDKTKDVEAEAGALVAKALHVLRRVETVVVETAQKV
M. japonicus	NHETM-KDPQLAPELDQLMKEICEKTKDVEAETAALVAKALHLLRRVETVVVETIAQKV
P. carinicauda	DQHTMKKDPDMVVKLDAMLKEVCQKMKHGVQEDTASYFANALQYMRVPEEAIPTLEKI
M. rosenbergii	DQHTLKKDPDMVVKLDEVLQVCEKVKHGVHEHAASHFAKALHFLRRVPEEAIPTLEKI
P. hypsiotus	DQETLKKDPSLMAKLEELKQVCCKTKQAVEETAASHVAKALHYLRRIPEEMVQTLQKI
P. japonica	DQETLKKDSSMSVKLDEVLQVCEKTKESVVEDTASYVAKALHFLRRVPEEAIPTLQKI
	: * : .*: : : . * .:: . . : : * * : . : :
H. raphidea	RSGAYGHNTQNLEHIYLDALTFLEPGVFPVMVQEISQKASVARTALYAMAMHLLPRPN
O. oratoria	RAGAYCPNWHKLEQMYLDAIAFLSESGAVPVMVEEISQGRASSGRTALYAAALHMMPRPN
P. trituberculatus	RNKQICPQHTKLESFLMDAIAFVHEPESVFPVMVKELVEGRTTGTLAALYSTAFYLVPRPD
S. paramamosain	RNKQICPQHSRLESFLMDAIAFVHEPESVFPVMVKEQVEGRATGTLAALYSTAFYLVPRPD
C. sapidus	RSKQICPQHSRLESFMMDAIAFVHEPESVFPVMVKELVEGRATGTLAALYSTAFYLVPRPD
F. chinensis	RQGHYCSDSARLESIFLDAVAFLHESGAVKVMVHEIENGRATGGRLALYTAALYLTPRPN
M. japonicus	RQGHYCSDSAKLESIFLDAVAFLHESGAVKVMVQELILHGRATGGRLALYTAALYLTPRPT
P. carinicauda	RGGQICEQRQKLESFLDGLAFVYHESGAVKVMVQELVSGKATGGRAALYAAASMYFMPRC
M. rosenbergii	RGGQICEQRQKLESFLDGLAFVYHESGAVKVMVEELISGKATGGRAALYAAASMYFMPRC
P. hypsiotus	RGGQICSDHQKLEGLFLDAVAFIEAGAVKVMVQELVSGRATGGRAALYTAALYFTPRPC
P. japonica	RGGQICGDHQKLETLFLDAVAFIYEPGAVKVMVQELLSGKATGGRAALYTAALYFTPRPC
	* : .:* : : * .:* * * * . * * * : * * * : * * * : * * * :
H. raphidea	IFAIESLVPLFQMSQPPKTVLLAAASMLNTYLRQHPHHQEENHVQQIIISLVTTKLQGLRN
O. oratoria	AFAIKSLAPLVMTDHPKTVLLAAASMVSTYIRQHPRYREEGLVDEIIMLATSCLAETCH
P. trituberculatus	VKATQALEPLFKSSADLSSAKLAAASMVNTYCRHKPHCYNETPVNLAQALKQKIEEDLS
S. paramamosain	VTAIRALEPLFKSNADLSSAKLAAASMVNTYCRHKPHCHEESHVRNLVQALKQKIEEDLA
C. sapidus	VTAIRALEPLFKSSAKLSSAKLAAASMVNTYCRHKPHCYDESPVNLALALKQKIEEDLS
F. chinensis	IEAVKALTPLFESPRMPSSLLLAAASMVNNYCRHTPACYEKAPVAGIAEILANRVQSHCS
M. japonicus	IEALKALAPLFESPLMPSSLLLATASMVNHYCRHTPHCHQEAPVERIAEILAAKVEGHCS
P. carinicauda	IHSIEALKPLFEQYQRFPRRTTLGASMVHTYCRQNPCKQEKAPVRLAETLSSKVGQVCT
M. rosenbergii	IHSVEALKPLFENFQRFPRRTTLGATMVHTYCRQNPCKQEKAPVRLAETLSSKVGQVCT
P. hypsiotus	IHSIEALKPLFENSQRFPRRTTVAATMVNTYCRQNPCKQEQETPVRLAQLTSLNKGVLCT
P. japonica	IHSVEALKPLFENCQRFPRRTVAASMVNTYCRQNPCKQEQETPVRELAQLTSLNKGVQQCS
	:::.* ** . : * * : * * : * * : * * : * * : * * :

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนนในกิ้งตักแดนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสีเหลืองคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD



```

H.raphidea      VLRDINPFGEEGRSNVVEIVNQILSRITNSGSSSSEIKSFLENKVRSRQHEKTSPEIDL LYL
O.oratoria      IIGDISNFVQGRGFKIADYLMETF-RSKRSVEFPAVETFL ETNVRSRKHEDKQPHVDLYL
P.trituberculatus MFNDLVSF IQKNWSTIKQLEVAI-RERRSVDYAALES IISKLYGPHY--GK-FQADFFA
S.paramamosain  MFNDLVSF IQKNWSTIKQLEVAI-RERRSVDYAALES IISKLYGPQY--GQ-FQADFFA
C.sapidus       MFNDLVSF IQKNWSTIKQLEVAI-RERRSVDYAALES IISKLYGPQY--GE-FQADFFA
F.chinensis     IMEDITGFAGEKGLKVM EHIKGTL-RTRRSIDSSVIADFFSKLYGESR--SH-THAELFA
M.japonicus     IMQDITGFABEEKGLKVM EHIKQTL-RTKRSIDSSVISDFFGKLYGEGR--SH-THAEVFA
P.carinicauda   ILRDLSSNIEETFNKINERLQGSF-RQRRSIDLSQISHLFDKLYGNRH----MQKADFYA
M.rosenbergii  IWEDL----KETLSKVTERLQGSF-RQRRSIDLSQISHLFDKLYGNRH----IQKADLYA
P.hypsiotus     IFQDISSMGDKFSKIIERLQGSF-RQKRSIDFSSLSHLFDKLYGDRR--SRMPKADFYA
P.japonica      ILEQMSSIMGDKLSKIMERLQGT-RQKRSIDFSTLSSLFDKLYGDRR--SRLPKADFYA
:  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :
H.raphidea      RLFQGEVVSFASLTS DVLRLQLQKLS TTSLPSDLITFIEKEVLSYLADTQLNMVRLPINL
O.oratoria      RLFQGEVVSFASLTSELKNID-----VDMIISDLFTFLDQA----MSKTQIKTARTL PFDL
P.trituberculatus RFLGQEIYNYASLSDNLQIN-----IQHLVEASVRYLKRMLSSLKNM DLMVKAQGLGV
S.paramamosain  RFLGQEIYNYASLSEQLQDIN-----IHHLVEASVRYLMQM-LSSLKNM NLDKMRAAHLGL
C.sapidus       RFLGQEIYNYASLSEHLQDIN-----IHHLVEASVRYLMQK-LNTLKS MNLDIVRAAQLGV
F.chinensis     RFMGHEITYADVAESLKGVT-----ADTLIETFFSFFENS-LEHMKDNLN TARTAQLSM
M.japonicus     RIMGHEITYADVAESLKGVT-----ADTLIETFFSFFES-LEQMKNL NLTARTAQLYM
P.carinicauda   RINNQEMAFGSLMGNMKNIK-----MEELINMFD SFDMM-INRAAENNLDTVRAAQLYL
M.rosenbergii  RINNQELAFGSWEGNMKNIK-----IDELINSLFDKFDNM-INRAATSNIDTVRTAQFYL
P.hypsiotus     RVNDQEMAFASLAGDLRNIN-----VEELITRFFDSVDDM-ITRAANANLDSVRTAQIYV
P.japonica      RINDQEMAFASLAGDLKNIN-----VDQLINSFFDSVEDM-ISMASNAE VDSVRTAQIYL
* .  :* :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :
H.raphidea      EYTIPTMQGIPLDLSL SGAAVLGLNSTSTVD----LSA-DNPRGAVKAVP SLSLQLEGFV
O.oratoria      DYTITPTMQGIPLHLDLGGAAVLSLDVDAEVDVKNIISS-DNPQAFIELI PGLDVELDGFV
P.trituberculatus DYSLPTIQGTPLKMKLETVA VAGIKMQTNLN--GLFSGQGSSGSLFKILP SFSVETHGFI
S.paramamosain  DYSFPTIQGTPLKMTWETVA VAGIKMETNLN-----GQGGSGSKLKI LPSFSVETHGFI
C.sapidus       DYSLPTIQGTPLKMTLETI AVGIKMETNLN--GLFSGQGSSGSKLKI LPSFSVETHGII
F.chinensis     DYSLPTIQGTPLRLKLAGTAVAGLKMEGNINVAQILSDLGNSQTGVKFF PGLSVQATGFV
M.japonicus     DYSLPTIQGTPLKLAGTAVAGLKMEGDFNIAQILSDPGNLQTGIKLF PALS VQATGFV
P.carinicauda   DYHLPTMQGLPLKMKLEGTAVAGLKMESRVR----GLMSGTPGVMMK FPLSLSTQIDAFI
M.rosenbergii  DYHLPTMQGLPIKMKLEGTAVAGIKVETQVR----GLMSGTPGAVKFL PSLSTRIDAFI
P.hypsiotus     DYHLPTMQGVPLKMKLEGTAVVGLKMETRLS-----GSPNIIKFT PSLSSQVDGFI
P.japonica      DYHLPTMQGMPIKMKLEGTAVAGLKMETRLT----GLSGGSPNLIKFI PSLSTQVDAFI
:  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :
H.raphidea      GFKS-IIRHG I K M E N K L H T S N G G R V E V D V Q K G K L V K I Q W T P L P H K S N L L Y F N S Q N L V K E
O.oratoria      GFKS-VLKHG I K M K N N L H I S H G K I R I D L K K G E A L S I K W D - L P E K W D I I S F K S Q T Y M L N E
P.trituberculatus GYDAYISKSGLKMN TTVSSNNGVAIKVGGQSSQEVQIEVD-LPKKMEI IRVQSETYLKQ
S.paramamosain  GYDAYISKSGLKMN TTVSSNNGVAIRS---CSQELQIEVD-IPDKMEI IRVHSETFLMKH
C.sapidus       GYDAYIYKSGLKMN TTVSSNNGVAIKIGQSSQDIQIEVD-IPNKMEI IRVQSETFLMKQ
F.chinensis     GFECRLTKVGIEMQNTISSATGAAIKIRTTENKKIEMELD-VPEKMELLN IKAETYLKVA
M.japonicus     GFECRLTRVGIEMNTISSATGASINIRTTENKKIQMELE-IP EKMELLN IQAETYLKVA
P.carinicauda   GYDCHIVRTGIKMRNRISTNVGTSINAKYTSQGFEVTL E-IP EKMELLNMRSEIYLMKR
M.rosenbergii  GYDCHIVRAGIKMKNHIATNYCASINAKYTPGEGFEVELE-LPEKMELVKAQSETYLMKR
P.hypsiotus     GFDSHIARVGVQMKNHLATTSGGSINVKATRSNGYELEVD-LPEKMELLNMRSETYLKVA
P.japonica      GFDYHIAQVGIKMRNVSTTACASINVKTSSSNGFEIEVD-LPEKMELINMKSETYLKVE
* .  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :  :

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกักเตอทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกสปีชีส์ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

H.raphidea      WSPVLHKQPQQIILPQPQGDVSPFKVDKCLDRLQDDLGYRICFNANFPDLIRSTVSPFGQ
O.oratoria      KIQVLNENPEHKIIPPEGINDVRLVEKNECTDFFENPLGLRFICYIILNLPDPLHSSMPFGK
P.trituberculatus  ----TRNQPEIKILPPSMQDIR-IRHNSCFATALESVFGIKMICYDYNVDPIDFRANALPLGS
S.paramamosain  ----TKNQPDTKILPPSMQDVR-VHNSCFATALESVFGIKMICYDYNVDPIDFRANALPLGS
C.sapidus       ----MRNQPEIKVLPPSMQDIR-FHRNACFTTLESLLGIKMCYDINVPDIFRANALPLGS
F.chinensis     ----V-GKKMTKISPSMRDVR-IQRNSCTIGALEPVPVGLKVCYDMNIPDVFRANALPLGE
M.japonicus     ----V-GKKLTKITPPTVRDVR-VTHAACLNAVEPVLGIKVCYNINMPDVFRANGLPLGE
P.carinicauda   ----VMGQEETKINPSSVRSTR-FQSRSCVMKLEPMLGLKLCYDVMNPNIFRSEGLPLGP
M.rosenbergii   ----VKGQETKIVHPSSVQSTR-FQTQSCVTKMEPVLGLKLCYDVMNPNIFRSQGLPLGP
P.hypsiotus     ----LKGQETKINPSSVRSTR-VQKQSCMRALEPMLGLKLCYDINMNPVFRSEGLPLGP
P.japonica      ----VEGQPETKINPSSVRSTR-FQTRSCMMALEPMLGLKLCFDINIPNVLRSEGLPLGP
                :   : *   .   .   *   .:   :*   .*:   *.*   :::   .:*:*
H.raphidea      PIQVNIATAEKTGTLDKAFSLTVLTGQNDHKDISLVLETPGQAVA-----KANYRNKEDS
O.oratoria      PLEFSLTAEKAEASMEGYAITATLTNEVENKAIDFVVDTPGCTIPRECKAKISYTKQDNS
P.trituberculatus  PALVILSLNKTESTITGYKIAVNAHTDTQDKKYAAKVSAVGSSSPKESNVEVNLKKGES
S.paramamosain  PALVTLVSNKIESTITGYKIAVNADTATQDKKYAAKVSVVGSSSPKEANVEVNLKGDSE
C.sapidus       PALVILSLNKTESTITGYKIAVNADAQTQDKKYAAKVSVVGSSSPKEANVEVNLKGDSE
F.chinensis     PAIAKLYVEKADPSMRGYLVTAAIKNKRGKVIKMNVEAAGASTPRRAEMTLYSKEEGS
M.japonicus     PAIAKLYIEKADPSMRGYLMTAAIKNKKGNKFIKLNVEAAGATTPRRAEMTLYSKEEGS
P.carinicauda   PANIQVFLEKADSGMRGIRVMGREENTGGKRVIKIELETPGSSSPKKNALISSTNEGEA
M.rosenbergii   PAIVKVVLEKADSGMRGLRVKGREEHAGGKVKIIVELEAPGSSSPKKAITAIITSANEGEE
P.hypsiotus     PASAKVFIKSEPSMKGYRMRANVEGAEGKKEIKVEVEALGSSTPRKANGIISYSRNQDM
P.japonica      PATAKVILEKSDPSMRGYRMKGNFENTEGKKEIKVETEAQGSSTPRKANIMVSYSTQGDM
                *   :   :*   .   .   .   .:   ..   *   :   .   .
H.raphidea      NIISVSISSSVLKYSVESRLIVS-----
O.oratoria      HIALVSITSALLEYSAQTFVNDNAENKALEMFWKYKLINMADEYAHAFKTDLQIKRTDNH
P.trituberculatus  YLAEVKLMSSSLTHGKIKIGLVNRPELKTFFETEVSLLTSG--MEFLQGFIVETKITPIQNG
S.paramamosain  YLAEVKLLSSVTHGKARINFINRPEQMSFQADFSSNNG--MEFLQVLKVEIKETSTTNG
C.sapidus       YIAEVKLVSPVTHGKAKISLINRPEQKTFQTEVSFTNNG--MEFVKVIRVEIKKHTSNG
F.chinensis     HIVSAKLDSSSIAAGMWTTLTNEQGKAIETYVNFNYGQ--IAISRGIKLDAIAREASMG
M.japonicus     HIVSAKLDSSSIAAGVWATLTNEEGHKAMETYVKFDYGQ--IAISRGIKLDMIVKEESAG
P.carinicauda   KKI SATFESER-----LGGIKIQMTRKWTQSE
M.rosenbergii   KKI SATLESER-----LGGISIHMIRKWTQSE
P.hypsiotus     TKIMCTLESQT-----SGGIKVEIKKKWTQSE
P.japonica      AKLTCLESQT-----TGGIKVEIDNKWTQSE
                :   .
H.raphidea      DKIELIVHSSPTFDSKPTPALQLLWISRSKE--YILKARTENDLRKIQLDADVAIK
O.oratoria      KKLGLILYSPSWTFQPEQSIFEASWLTATQDKLTNIDVTVRINNILRDFIQIDIEAGID
P.trituberculatus  IRYDMDIYCSPSGSISEQSKIFTGMLKLEHMLPNLMIEIKGETKNILSQYFPFSDAVVF
S.paramamosain  MKYEMDVYWSPNSISQESKMFTGLTLDHMMPMVMHISAETKNSLMQYIPFSLAVVN
C.sapidus       MKYEMDVYWSPTSSTSQESKIFTGLLKLDMMPNMMEISAETKNNLMQYIPFSINTVVM
F.chinensis     EEFQVNVFSSGTRSFPSHIVEAIFIKKTSGEFNVVDVICKTKNALAEFLDLNIEVGAD
M.japonicus     KEFEVNVFSGRSRFTPESHIVEAKFIKKTNGPEVNVVDVICTRNLAAQYFDLNIEVGAD
P.carinicauda   KQLEMIAYFSESRYNPSTKGIKFLMIGEAGEAKLDMALQTLAAVREVRVQLNFEASAD
M.rosenbergii   KQVQMIAYFSESRYNPSTKGIKFLWNGEGEEVKVDVALQTLAAVREWAQFNFEVSGD
P.hypsiotus     KRIELDTFASRSRQYSPDKCIETKFMMDTDDGQEIKVDTVLRIMDTLQRYIDINFEVSGD
P.japonica      KQLKLDAYASRSRQYTPDKAFEAKLIMADNGQEVKVDVFRITLATIKRTIDINFEASGD
                .   :   .   .   :   .   .   .   .*   :   .   .

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกักเตนหางจูดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรมอนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD



```

H.raphidea      M-----SYEPYSFIPSAVMVHKWVYGVKVVSHWELRQQVETSSDITD---FQFK-
O.oratoria      V-----RFSYLLHMPSIDNIRKWEVDIEVLAWKLHEHIRTIEESEDQAQWSTKC
P.trituberculatus F-----KY--YNDVPIPLWLQHFELTAGINGWMMKSFRRNSGESSQSS-----L
S.paramamosain F-----KY--YNGVPLPVRMRQLELKGIDGWMFIIFFRDSGESSQRSNYFFGS
C.sapidus       C-----KY--YNGVPIPVQLRHLELMVIGIDGMMKIFVRRSSGELSQGSNYSSGL
F.chinensis     FMKFSPKDLYPARYIPKTRIVLPVNLKMEINVATAAWKLISYIRAGSQSGESREFISAL
M.japonicus     FMEFSPEGVYPARYIPKVSILLPVALRKMEVHANTVAWKLASYIREGSSQSGESRELI SAF
P.carinicauda  M-----CYIEGSMIPYPRRLRKFETNLAFRQWHLVSFVRKESES----QYKSEL
M.rosenbergii  L-----RYHEWCRIPLPQLRKFETNIALRNFHIVSFVRKEGES----QYRSAL
P.hypsiotus     L-----KYSEMGTIPLPRRLRKFEMALASERWHVVSFVRQAGGS----QYNSAF
P.japonica      L-----AYSQWTRIPMPKRLRKFECTIASGRWHLISFIRKASDS----QYSSAF
                :       :       :::       :       ..
H.raphidea      -----LSKKGIPQIDISVKKTPIHFTIDGYTAVTLWNTGIKSIVALHLNDKGVNATWDV
O.oratoria      SLMKGERTYIGIETITKKSQTFPINFNIDMDTTVILGEVELRSLNKVQHDGTEMKVTDWL
P.trituberculatus PTVPRREMMIDIKADLRLQGTPAVNFIEQLTVDAKIGQTEYKMQRRRIAYQERRRAISLQL
S.paramamosain PAAHEKEMLIDFQVDRLQGTGTHGVDFIEQLFVNAKIGQTEYEMQQRIECQETRAISLQL
C.sapidus       QLLHNTMFIELQADLRLQWTSAVNFMEQLSVDKIGQTYKMEQKIMWQETRKAISMQV
F.chinensis     TLAQGRKDFISVQATHTIEGRFPQNI I IKNVATAEVGRSSYKAMYDLFYHSEKMGASVEV
M.japonicus     KLSKGRNDI IYVQATHKIEGTLPQNI VIENEATVEVGRSSYRAMYDIFYHPEKIGASVEV
P.carinicauda  KFGQKGNKVEMTATHVMEGSSFMDMALKTNLEAKIGSARYKKNLVLYNQESKKGVVLVQV
M.rosenbergii  KLGQRGNEKVAIMGNVHMEGSSYRDMTLKSNIEAKIGNARYKNNF ILYNQESKIGAEWQV
P.hypsiotus     KFGQKGSSEMVSEATHHTIEGSSYRDLTLQSDMKGKIGSTQYKTFAIYCNDAKMGTKMQV
P.japonica      KLGPMDAEWAVEATHMIEGSSYRDMTLKTDLKGKIAHVPEYETNIVIYNNDAKRGATL RV
                .       .       :       .       :       .       :
H.raphidea      LNTRSTEKVLYASALVTRQEQGKVSYDYHIQIHFISALDKVDIEGRIEKEDSSKHVEGK
O.oratoria      ENRKTTEQI IHI LASFMKNEAEKLSYETKLFQHFIEKLTERRLDIVGHIDHVEESKYDVTIT
P.trituberculatus TRPTDNVKLLEIAAE--KDS---QEIMFLFVWQMEYMAPIKVAASFVQQG-QDYDAEAI
S.paramamosain  TRKSDNVKLEIGAE--KDS---HKIKFIFWVQVPEYMAPIKMAAGAVQQG-QDYNAEAI
C.sapidus       TRATDNKLEIDAK--KDL---HEMKFIFWVQVPEYIGTIKVSASIEQQG-QDYNAEAI
F.chinensis     LQAAGNEKVAHLEAIYELSG---EKYCTKFAEIEFGYIQPVKFEAGIEQEAESRYTLESA
M.japonicus     FRTAGNEKVAEMEAIYENTG---EKYYTKFLVEAFGYIRPVRIEATAEEETGGRYALESA
P.carinicauda  VSQGESAKVIEVEMMLMRSG---ETHHLKLLLDIFARMKMMLEASAAGQSSQYQVKAV
M.rosenbergii  ASQ-EGGKVIELEMILIRSG---ETSQVKFLLDIFERMKVMIEASAAGQSSQYQVRAM
P.hypsiotus     TREGDSAKMMEVEMLLTPSG---ENYRLNFLLDIFAYIKAMKVDASATHQSSQYQIGVG
P.japonica      TREGG-MKLTDELMIFARSG---ETYKMNFLVDIFACIKPMKFEASAHQNSQYQIEAG
                ::       :       .       *       :       .       *
H.raphidea      TKYQNQI IYTI GGEITL DVTGKS---DVNLEITGSSHRSYKIGQLENSEKKLI-SVVVQ
O.oratoria      FMHNDQVVYEVKGEVTLILNKKWLQEMELEITGFSEGPHKLTVMENSNKVKMVDLR
P.trituberculatus IMHGQOTLVQLHGEVTTYINSPTLTKVGANIKINNF----YQFVSSFYEEGKQIVLLEIK
S.paramamosain  IMRGOQIIVVQLHGEVTTYMNSPTLAKFGANIKINNL----YQFVSSFYEEESKQTVLLEIK
C.sapidus       IMHRQOTLVQLHGEVTTYVNSPTLTKVGANIKINNF----YQFVSSFYEEGKQVSALEIK
F.chinensis     ITYGQRTVLEVSGEIMARFSSKI AKLQANIKLRAMASQPYIIGANVAFGSKRQMIAMEIK
M.japonicus     IKYGERTVFEVTGVMARFSTKTAKLQANIKLSAMASEPYIIGANFVFGNKKQMIAMEIK
P.carinicauda  AKHGESPILQVEGELTAMISSRNTQFKTEMRVVLLRFQPYTVSTSLVLMHGKQAFTEFLK
M.rosenbergii  AKHGESPIFHVEGVTAMLSPKNTHLKAELRAVLLRSQPHTVTSASLVMHGKQAFVVELK
P.hypsiotus     VKHGESVILHVEGVTAKLSSRLTQLQTLRISCMNGKPTVSTSVVLPAGPKQVAFELV
P.japonica      AHHGQSVIFQVEGVTARISSRMTLQTKLVVCMRSQPFVSTSVVSAQGMMAVAFELV
                :       :       :       **:       .       :       .       .       :

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนนินในกิ้งตัวก้นเต้าที่แสดงตำแหน่งที่ตรงกับยีนที่มีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกยีนในกลุ่มยีนที่มีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

H.raphidea	NPDNPIFKAEIESVPKSDGGNLILTALEIPSLIKT-KISFHQSRDIIDVYIYNNLFP
O.oratoria	DPTGILLNSMVDRTLISEEESDIKTSFAFFLLTDT-KADFHLSKDTIHINFNSVMFP
P.trituberculatus	KEEEVLLALKCNLKTSPSQGSSLEAELNVPILFDG-TTEISITENIIHITNTLLLPNSP
S.paramamosain	KGEEMLLSLEGNVKTSPSSQGGFFIQAKLHIPILFDG-NTEISITENVIHISTNTLLLP
C.sapidus	KGEEMLLSVKSDLKTPSPQGSLSQAKLNIPILLDG-ETEVSITENVIHITNTLLLP
F.chinensis	DRSEPLIGLEWKMVRESSEKTTVGI VFVLPALIEIEN-KIDAEITDGLIHVSFNNLVLPKTS
M.japonicus	EREPEVFGVEWKMVQESAETKTTLSIAFVLPALIEIEN-KVDAVITEDLVHVSFNNLVLPKTS
P.carinicauda	NREERLIATEWNMATQDGKETNVQFKMIVPSMVEK-TMNVIVSEKVLHLSFNQLIMP
M.rosenbergii	DREERLINVQWNMATRDGQETNLDKILIPSMIEK-TVNVIVSEKILHLTFNQLIGPKSS
P.hypsiotus	NHPDRLMAVEWNMTQNEQETRMDFKILIPSMIEK-SINVI ISEKVLHWSVNMLVMPKSP
P.japonica	NQSERMIAVEWNMASQDEQQTKMNIKLNIPSMIENNRIDAIISRKHQLSFNNVVSPKSS
	. : : . . . : . : . . : . . : *
H.raphidea	YEQTIKGSYSHFVENKVTSNFLWKTSTRSGDPLEINLETKYVLEKGP--FTLRGDLVNLG
O.oratoria	YRQRKGFIDQDFRGKVIKSDLLWDAENDESKKIS IETNYDFPEGGP--LTMHGGVWVRG
P.trituberculatus	SPRRIKAFLDINWTQKQGQMMVLLWADKEASQKIALDVVIVPESGRPAEATLHTKMLLLD
S.paramamosain	SPRRIKAFLDVNWSQKQGQMMVLLWADKDSQKIALDVNI VPESGRPAEATLHIKMLLLN
C.sapidus	FPRRIKAFLDVNWTQKQGQMMVLLWADKDASQKIALDVTIVPESGRPAEATLHTKMLLLN
F.chinensis	SRRRVKGFADIIHAGKANVEFSWADADNAPEKKLVLDASLISSTANPGHAEIHGNIVIAG
M.japonicus	YRRRVKGFADVNI GEKRANVEFSWADADKSPEKKLVVDASLISSTANPGHAEIHGNIVIAG
P.carinicauda	SPLRRKGFDFIDFESKRANAELAWDADRNPKNKKI KAEVRLVNPLATLRDCVIGNWIYLE
M.rosenbergii	SPLRRKGFLDVDFEGKRANAELAWDADRNPKNKKI KAEVKMNVNPLSTLRDCVIGNWAYLE
P.hypsiotus	SPLRMKGFVDVDFESNKAQVEFAWADADRNPKNKKV KAEVAIVSGSSTLQNTVIGHGWTYLD
P.japonica	SPRRVKGF TDVDFENKVKADLFWADADKEPNMMLTMEGTIVSSSSTPQQTIVHGAWTYIG
	* . . : . * : : : . : :
H.raphidea	RSHGYNTKIDI-SILPMFEGQNKINFWVTATGKGF EIVANLDDKKILPQKH-SLTGSLHL
O.oratoria	EPHQYNLKVQLASPLRIFEGHNEVDLVWTTPAQQTLNIRALLDKHHSNDKSSMGTLIHF
P.trituberculatus	QAYHSNMKVVVPFLLQRYGERNSIHMEVQTPEQKKWMLLEVGVQKQ--GSN--TANVDLTF
S.paramamosain	KACHS IMKVVVPFLLQRYGERNSIHMEVEAAEQKKWML EIGVQKQ--ESN--TANVDLTF
C.sapidus	KAYNSNMKVVVPFLLHQYGERNSIHMEVETPEQKKWML EIVAVQKQ--ESS--TANVEVTF
F.chinensis	EPYHAKLVLTAAANLVEHMEGENGFKLILTTPTQKT VVVLGASCDVQLAGATT-KVISTVEY
M.japonicus	EPYHMKLILTATNLLEYMEGENGFKLLLTTPSQKT IVLGASCDVQLEGTTT-KVSVSIEY
P.carinicauda	KQHQFKAECLKLSDPRTWFI GRNSLMLEVTPSQQMYKMNAMVMEKESSGP-KVETEGTL
M.rosenbergii	RQHQFKAECLKLHDIRTWVGRNSLMLEVTPSQQMYK MNAILMVEKESSGP-KVGADVTF
P.hypsiotus	NTCQFKAECLRADPRTWVGRNSMMLKDFTTSSHRTY KMETVITIEQESSAP-KVEAMITF
P.japonica	STRYKTEIMRSDPETWLF GKDKIELSTPSQKTHWLETTLNVEKESSGA-RVKAIEIKY
	: : : : : : : : :
H.raphidea	KTVHDNDYTLTGKYELELLGPREYQLQANIDLICPQTQATISV---TDKKTGRERNVQI
O.oratoria	KTAHDNIYEWKGEYNLEYLHEPMNYKLDAGLTLKSP EIEEIVSAIHAYHKKTENEREVLF
P.trituberculatus	KSVHDNNYHLTSSVQWQLLDGPLCFEVQTRITFI APQNKQSQFVLHVKHHMSPEQHIIYL
S.paramamosain	KSVNNNNYHLTSDLRWQLDGPLCFEVQGTITFIS PLNKRQSQFLLHAKNHNSPQRRIIHL
C.sapidus	KSINNNTYQLTSELQWRRLDTPFGFEAQTRITFIS PKNKRQSQFILHAKNHISTQQRRIIYL
F.chinensis	KNMMDRKYKYASVIALEKLGGPLNVAEAKVTYKQPGTAE IKLETAAKHHWTPPEHVVAF
M.japonicus	KNMENKEYKYTSVIALEKLGOPYDYVVKAKVIYKQ PETQEI MLETEVKHQWTPPEHLVAF
P.carinicauda	RTPANKEYKWNSTSLWREGLRNCMMTKVDLNAPEGRQSTMNLEAMHHWTPTRQREADL
M.rosenbergii	RTPENREYKWDSESALEWREGLQNLRLTTKADLVGPGGRQSRVNLEAMHRRTPSQRAEL
P.hypsiotus	KTPENRVYRLNSESSEVWELGGPYNMKVTTADMTCP EGRQTKVVI EAKHHRTSSQREADV
P.japonica	KNPESKQY TASSMSMEGLGMPYNFKFSQNDMISPEGRRASLSLETKEKTPHQREVFV
	: . . . * . . . : : : . . : . :

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนนินในกิ้งต๊กแตนหางจุกกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกสปีชีส์ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

H.raphidea      TMDIPKSEVKAYVLG---VVTTSDFKTKIDVKHASEQQILIESHGQ-IASHGLELIKSG
O.oratoria      KADISKSKLTEPIVADILSKFTENSFEAKIT-----FDYA-----
P.trituberculatus MMEASTPSPMQPPLKIFISLENKDYSYVTKLQSEVSGPETL-FLWQLETYPGGVKHL---
S.paramamosain  MMEASTPSTQPPLKINFLENKDYSYVTKLQSEVSSPETV-FMWQLETYPGGVKRL---
C.sapidus       AMEASTPSMQPPLKVNFSLENKDYSYVTKVESEMGSPTL-FVWQLETYPGGVQHL---
F.chinensis     KVEAAAPVLKTPAMIEFSIRNAPNAFVGFCKIERNAPSTV-FEWNVQTTPEGGIEAV---
M.japonicus     KVGAKAPVLKMLMIAFISHNTRGSFVGFCKIERNTPSNV-FEWKIQMTPEGGIEVV---
P.carinicauda   KIDISCPSLQQPIRTQLQMNQGEYSTKWVIEMGSPVNG-AMYKLLKSPGGVQGF---
M.rosenbergii  QIEVTCPSLQQPIKTKLQLNQGEYTTKWVIEIGSPVNG-AMYKLLKSPGHVQGF---
P.hypsiotus     QVHITNPSLHQPMQTKLALVNQQGQYSCKWMIEMGSPVDG-ASYELRMTPEGGVESF---
P.japonica      KIQVRSPSMSKPVDTSFMTMMHPSSYKAEWKIDVESPANG-AQYELMLTPEGGVQSC---
:
H.raphidea      ELNVDLKLFPQMSKLLQVKSRKN-EDGSMHAHIYMEP-KRWKINVRKSTHVVDEVETP
O.oratoria      -----GKISSIESEKK-EDGSMRLEMVKNDETYFNIRISQPEPIAWNVOIETP
P.trituberculatus KNAIDLTAIHNVLKS--VSTIVGLRGSSPLVTSAYRKRNAYGYRYTNSSTGIHSLIEQP
S.paramamosain  ENTIDLTAIRNVVKV--VSSMVGLRGSSPLVTSAYQKRNAYRYRYTQSSPGTHSFIIEQP
C.sapidus       KNAIDLTAIQIVLKS--VSTMVGLRGSSPLVTSAYQNRKTYSYSTHSPGTHSFLIEHP
F.chinensis     EAGVDMKAIIEVLKI--VRAVATLEAESY-ETY-GPHTSQYQYRFRTRPSPTYMQMRTPE
M.japonicus     EAGLDMKAINEVLKI--VHAVVTFEEEGY-QAY-GQETAKYQYRFRTRPSPTYIMQMRTPE
P.carinicauda   EVELNLKQVSELMKA--LEHLLSSTSSM-TSMATHSSALYRAHFKNHERHSLSLLLMSPE
M.rosenbergii  EVELNLEEVLKLLNA--IDHLISSSSSSM-VDSPRLLLFIV-PTTNIMTIILIPCLMSP
P.hypsiotus     KVELKLVKAVSELMKS--IESLVSMPSRGT-HE---RSEATYLFQYHKQTPSHSILIRSP
P.japonica      MVGFNMKEIVDMLKA--VERLTGMRSGSG-SP---REGSTYLIIHYEMPTVTSHKVRHSP
:
H.raphidea      SRTLEAKVTLDS-----SNPSLQLWPNKKGKSQDNIEIISAKVSQTKR-KNNQVLTIDGKF
O.oratoria      SRTLEALTRLDS-----TKPSVQLWLNKEKSEDKFEVSGNVVTKEV-RGTQGTRIEGKV
P.trituberculatus SRTVEAEATYSP-----SKVGIKFYPNRTESEAKYEVSGEY--IDSLWG-GNSKLQGM
S.paramamosain  SRTVEAETTYSP-----SKVGIKFYPNRGESEAKYEVSGEY--IDSLWG-GKSRLQGRM
C.sapidus       SRTVEAQATYSP-----SKVGFKLYPNRGESEAKYEVSGEY--IDNLWG-GKSALHGQM
F.chinensis     TRTMEGRAKLSP-----RESGIKFYPNKKGKSESKYEIGYKANHE-GRWGGHASKFEVRM
M.japonicus     TRTIEGRAKLSP-----RESGIKFYPNKKGKAEAKYEVGYKANHQ-GSWGQHASNIEVRM
P.carinicauda   SRTMEGECKCNDCTGTPSCDCHCGFIPHKGMSSAKYEIALRQ--SHSDWN-RESRFEGRI
M.rosenbergii  SRTMEGGCGCNTCTGSPCADCHCSFIPHKGFSDSKYELAIARK--SHSDWS-GESRYEGRV
P.hypsiotus     SRTMEGAVKYSP-----NEYLVKFHPHKGVTDSKYELYAKH--TPSEWN-QHSRFEAHV
P.japonica      SRKMEGEVKYSP-----TEYSVKVYPHRGSSSESKYELSVTHSKTSSPWE-EQMKYNGRF
:
H.raphidea      KVSQNLKEILVSAEYTNSTSELSGYLELKTQPSSQGLILLTLRGKKDHGIIHA--NVLSL
O.oratoria      SYPGLSKDILVSAEYGFSP LAVVGSLELDIFQTHDDMIVLTLOGTKKSEGSYKTEVSVSA
P.trituberculatus SHPMLSRDMTAVIEYTRSGSQQGSFELDVFPPAADKITGSLTSLVLRANNTIAIEANLSS
S.paramamosain  SHPMLSRDMTAAVEYARSGSSQQGSFELDVFPPNTADKITGSLTSLVLRANNTIVIEANLSA
C.sapidus       SHPILSRDMTVAMEYTRSSSQQCTFELDVFPPDTADKITGSLTSLVLRANNTIVIEANLST
F.chinensis     NHPVLPKPIMAAVQYTVAEETTKGTIELDIFPEEANKITGTLETQRISENAIRAEAF LTS
M.japonicus     NHPTLPKPIMVAAHYTAIGETIKGTIELDIFPEEENKITGTLETQRISENAIRVEVFLTG
P.carinicauda   SHPSLERDRRMDIQLRRDEEKITGTVELDIFQKPEDKITIGKLESSIFAKNTVVVEAQLSG
M.rosenbergii  SRPGLERDRRIDIQLRREEQKVTGTVELDIFLRPEDKITGRLES LIYARNTVIVEAKLEG
P.hypsiotus     SHPSMQRDLQVDAQYTRNEQRIAGSIELDIFPNPEDKITGKLESMILSKNTIIDAQLTG
P.japonica      DHPSLERERKMEVMTKNEEKTQTVTLDIFPRSEDKITGTLESTMIARNSVTVEAKLSG
:

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกักเตงหางจูดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

H.raphidea      KGSATTQPIRAQIVWTNSTKAIVLHS----QTK-EVAALKYQQIVPEEASLWARLKTS-
O.oratoria      KALKFNPTIVLDTALTSSSTKGIELHYTDPVAVPR-KSIALKYERVVPEEGILSAKLKTP-
P.trituberculatus  RVLQVKPRVMMEVSWAAHTAAFNFTHFETPSSPESLKVYAKYDRI SKNYAAVTFHLAGESG
S.paramamosain  RVLQVKPRVMMEVSWAAHTAAFNFTHFETPSSPESLKVYAKYDRI SRNHAAVTFHLAGEG
C.sapidus       RVLQVKPRVIMEVSWAAHTAAFNFTHFETPSSPESLKVYAKYDRI SRKYAAVTFQLAGEG
F.chinensis     RMLKVNPKAIITAAAYAPETVALDVVFHKTPSAAPIFAIAAKYDKTAAHNAAAAFVVKMEE
M.japonicus     KILQVNPKAIVTVAYAPETFALDVVFHKTPTAPVVFALAACYDKTSAHNAAAATFVEMEQ
P.carinicauda   KVLKVQPKVIVRAARGPGNYGFDIKFHKTLSSPTSFLMSGRIDMRSGRNAAISFMVKNEN
M.rosenbergii  KVLKDHPKVVRGAYGQSNVGFDIKFHKNHSSPTFRMSGRYDKRSGRNAAASF IENEN
P.hypsiotus     KALKVNPKVTVAAAYGPRTTGFDIQFHKTSSPVSFLMSGKLDMSYGRVAATSFIVKTEG
P.japonica      KVLKVNPKVIVAASYAPHTVGFDFILFEKNPSSRPSLVISGKYDRSSGRNAALAF TMKTEE
:               : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
H.raphidea      TIDVEVSTILRAEKTSYCHGLNIHANYK-LHSHKYQTIARLGNAYVQLVTFKSHDNNQ
O.oratoria      SIDMEISTNLRSEETNHCHGLNLDTHYV-LQSQEYEEKSHLCYPAHAEIVAFKKGDENNK
P.trituberculatus  RPTMDVSGVIEPRYGPHCGFALLANARTSLLGDFAVNSTVCKPVFLEVVMKKQNSE--N
S.paramamosain  RPTMDVSGVIEPRYGLHCGFALLANARTSLLGNFAVNSTVCRPMFLELVFKKQDSE--N
C.sapidus       RPTMDVSGVIEPRYGPHCGFALLANTRTSLLRNFAVNSTVCKPVFLEVMVKKENSE--K
F.chinensis     RPVFEITAVTEPEEAATNGIRMKAVAYAAATFGKYNVFSKMKRPAFIEVTAMRPGA--K
M.japonicus     RPVFEITAVAEPEEEVTVNGIRIKAIANAPAFGKYNVFSKMKRPAFIELTMMRHGGE--K
P.carinicauda   QKAVDIALALHHPHQSSCYGVRAEGKAMTSLIGTYDIYSELCKPAFIEMTTRKHGSD--K
M.rosenbergii  QKAIDISVALHHPHQSSCYGVRAEAKAKSSLIGTYDIYSELCKPGFVSLTTKKHGSD--R
P.hypsiotus     RTVMDITGSVQPHQTPCYGIRIGAKTHSSVIGTYDVSTKICKPAFIEVITKKHGSA--R
P.japonica      GPVVEISGSVKPEHHPENGLKISAVARSSIGSYDISSELCPAFMRMSMKKHGSD--K
:               : : : * * : : * * : : :
H.raphidea      RMYVSLGCMKSPYEIELDLHVEKPGKNLLQRYADVLSIKADVMTPRIVDLLVHYDTEAIKQ
O.oratoria      KYFLNAGLRSPGKIELDLKVEKPKWNQLDRFANVVGKAEELTSPITLDLEGHYHHEEVEE
P.trituberculatus  IYKAALGLQLPYKAIISLSESDRSQ-TWDKYISLV--DIHLATPHRIKIDYKYRENEMAA
S.paramamosain  VYKAAIGIQLPYKAEISLSESDRFQ-TWDKYISLI--GIELATPHRIKIDYKYRENEMAT
C.sapidus       IYKAALGLQLPYKARISLSESDKFQ-TWDKYISLI--NIGLATPYRIKIDYKYRENEMAQ
F.chinensis     EYIVKGLRYPDAEAGVYVSDRA-GESRGVAVA--AVKLASPTMLKVEMAYEPQEAEA
M.japonicus     EYTARLGLRYPDTAEAGVYVSGRA-EEIRGVAVA--AVKLASPTMLKVEMAYGPEEAQV
P.carinicauda   MHVTIKIGMKGLKDVVVCISEANPET-MEKRP LIGMA--RLMLTSPMMKLETKYEGDKLHQ
M.rosenbergii  MYITKLGVMQGMKNVEASILEANPRT-MEKRP LIGMA--RMVLTSPMMKLETKYEGDKLHE
P.hypsiotus     MYVTIKLGVMQGMKNVEISIEADPET-EERQTLGMV--RVRLSSPSLMKVETVYKGDHLRS
P.japonica      TYMTRVGLQAIKNIELSVSEKDEERS-QEERHVSMM--RMKLVSTIINVMKYKDEASS
* : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
H.raphidea      I---KPQLDILTTLQLYESWHSIVQELREHEIYQSLKL--LGVDIIYQSIKEMYDIISED
O.oratoria      NMKEIMETIKTQVETFIQWQSIYHQLEEDAASQSVELPIVEADKVLVYRDEFHLHIYED
P.trituberculatus  LKDLVLDVYRITEEVLSWTDVYAEIERQASQAGVFPFPKIRQLMQEIKQEIIVEIYRD
S.paramamosain  LKDSVLDVYRITEEVLIWTDVYSEVNRQAGQAGVFPFAPEISQLLQEVKRDIMEIYAD
C.sapidus       LRDLVVDVYRVTEAFFMWTDRVYNEIKRQASQAGVFPFAPEIRHLLQEIQEDILD IYSD
F.chinensis     IINEMTEEFEKIAASFTSVVMEVVEFLKEEAAAKGIQFPSSQLVNLGVAKEEIEE IYRD
M.japonicus     LMNEMTEEYKAAVLFKSVVMEVVFHLEEEASAKGIHFPSSQLVTLGVAKEEIEE IYRD
P.carinicauda   IKSELQDIWRNHIS SAGNWM---SMSTEV LKE-GSGSPSAQMSVLWQEIKNASRIYSD
M.rosenbergii  IKSTVGDMLERLMS SAGNWM---SMSSEVLQE-GSGSPSGHMSSVWQEIKNASRIYSD
P.hypsiotus     IKSAVYENWSSLTSSAGSWLD---DMCREVIREGGSSSPSAQMAKLWQEIKAASRIYED
P.japonica      LWFAFSEKWSMMS PAMSWME---NMCQEIFQQSGSNSPYTEMARLWQETKKEALRIYND
:               : : : * * : : :

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งตัวเตนหางจูดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

H.raphidea      LHKDNLIPNPDDIY-----VF----VTEIYTYVVDIIVDIFGNVQLD

```

```

O.oratoria          LRKDEVIPDFYHVFQVLLINELHTIITQSHEAYLYASEVITQIYTEYAEFMSKISKAYQSE
P.trituberculatus  LIYNDILYEWNALVEILHGPTATFIKK-----SIFQSLQSMALQREWAV-----
S.paramamosain     VIYNDILYEWDTLMQILHRPTATFIKE-----FIFQSLQTMMAHSQREWAV-----
C.sapidus          LI-HDIWSVVDAMWMEILYSPSVTFITK-----SIFQSLQSMMAHQREWAV-----
F.chinensis        IVSEARIFDTEILGDILGSPVVSFISR-----VYIGVWSEIMRLQNHLSV-----
M.japonicus        ILSDARIFDTEIIRDILASPVVSFVPR-----VYFGVWSEIVLLQHQHLSV-----
P.carinicauda      LENDLVIPRLDNIRKWTHTSDLVSNIAE-----GCSKLWSQYAHFQQTLSS-----
M.rosenbergii     LENDLVIPKYDRLREWARGLLSNVAE-----GCSKVWSHYAHVQNSLSS-----
P.hypsiotus        LEYDCVIPSFEKIKQLARSDIVRNVA-----GYFNLWSHYVQIQHRMAS-----
P.japonica         LVYDNMIPSYETYERWARSQTIRNLIS-----GYKQMWNSVDELKMELYN-----
: .
H.raphidea         FAQILKELKRVLLQLRELYKQDRLTPHEVLEILSHILPLEEVKEFIAHFKEEHPEVYQNI
O.oratoria         IMETLVQTRTVLIQLKLDLYEKNQLTPETMMQTLKGTSLWEKIEELAKRLQEEHPQEYQAI
P.trituberculatus ---SIVE-----Q---LKQHFKAINKISEAVKQV-----
S.paramamosain     ---YMQV-----QIMELKQHFEPVINKITEAVREV-----
C.sapidus          ---AMVE-----Q---LKEHWRPAINKISEAMKEI-----
F.chinensis        ---SLIQ-----TIERFQEELGSISEIVMEVMTA-----
M.japonicus        ---NIIQ-----AIERFQGEFEGITEIIMEIVMEA-----
P.carinicauda      ---SVSD-----MMRTLKEQFSGLTNVVKEVVVGT-----
M.rosenbergii     ---SVSN-----MIRTIREFPGLTRVVTEVVMGT-----
P.hypsiotus        ---SVSN-----AVRTMQSEFDDIAKIIIEAVMGS-----
P.japonica         ---S-----IPRTMKSHFEGLTQVVNAVVIQT-----
: . . : :
H.raphidea         TYVWETLKKVLGQLLPWKKTSGEPGTYSEYQQLYESIFNTLNTITTPLYPEGILKHIEN
O.oratoria         VDVWNVVNGE-----
P.trituberculatus -----DQWMQTGEEPEIVRRLIEEVERSAIY-----RLMQTEI IQPIKE
S.paramamosain     -----GQWMHTGEEPEMVRRLVEDLERSAIY-----HILQTHIEPIRE
C.sapidus          -----AQWMQTGEEPEMVRRLVEEVERSAIY-----HVLKTHIEPIKE
F.chinensis        -----ARMAETGEVPEVVFDALEEKATRVF-----RIVKRE-VDAILE
M.japonicus        -----TRMAETGEVPKVLLDVLEQIRASKVF-----RIVKRE-VYEILD
P.carinicauda      -----ARGMKTGEMPQEIQRWSEFQESSVY-----RNVESE-FESLWR
M.rosenbergii     -----ARGLQTGEMPEVFRWVNEFLESSFC-----RAIESD-FDPLWN
P.hypsiotus        -----ARSLQTGEMPEGIRSLWSQMRETAIY-----RTVQRE-LDSMLS
P.japonica         -----ARWMKTGEMPEEMGRLEIQVQRNSLW-----IDVCKF-FTDMKR
: .
H.raphidea         SYPEMYTALPHVVLKILDSIKQDA---HHLIKTSPLRQVIDWLLHGKVFDDVPQTD--A
O.oratoria         LYPKEWETVIDILGHVIQDIKIDANKVYRRLMQRPLIRKVIEWFLHSFGLENIPQAE--E
P.trituberculatus TYPQQYQVTVDVVAKVIYITLRHDLMTKHKVLSPTLSRVIRKIA-DLSQDNTLRQTLEW
S.paramamosain     IYPQQYQATMEVVAKVIDTLRHDLMMQHKVLSPTLHRI IHKIA-ALSQDDILRQTLEW
C.sapidus          TYPQQYQATMEVVAKVIATFRRDLMQKVLASPTLHRLIRRIA-DLSQDNTLRQTLEW
F.chinensis        VYPEEYEAIVKHIVDNVVAILERDVGIVRERLMEIPAVVKI IDYTMHYHFSERAFAAEAEK
M.japonicus        EYPEEYEAITHVGVNVMAMLERDVEIVRVGLMKMPAVQRI IDYIMNHFHSKQVFAVEAER
P.carinicauda      NHQEYQGLKQILSKIKSTLRRNVDMQRRNIMLYKKSTHIVNWIWNHMFDMHMFKSIDM
M.rosenbergii     EYQEYQGLQQIWRKVNNTLTKDVNRQRNLMHYKKPRHLVNWIVSDMNIERMVFRGVDK
P.hypsiotus        QYPEEYQGLQQMLEKVKSTLATDFAKQRHNLQHSKPRHMINWINNHLNFRMMFQCMDR
P.japonica         MIMENEAEIVEIFNKYKETLMKDIETIREDLMQNTQIQEYIDWIINHLEHFQMVTKSMEH
: . . : : : . : .

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนนในกิ้งตัวก้นเตี้ยกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

H.raphidea         LIDSPLYQLLLKTPPMIYDSTTERQLYLLVFIYIYSLTAVPYGTQ-LSTGLDLIRRIIG

```

O.oratoria	VLRFLYQLLEETLQLNYSK-KEGRLHLVLELNREVVYSLTTPVYGVSV--PRLPVWKNLIG
P.trituberculatus	LESQMQSVI----IIAPEPGVNVHVGIIQLYRPIYSLSQVVMNTMQMSPLTLTEKMLL
S.paramamosain	WESQVTQSVL----IIAPEPGVYHVHVGIIQLYRPIYSLMQVVMNTM--QSPPTLSKKILL
C.sapidus	WESQVMQSI I----IIAPEPGVYHVHVGIIQLYRPIYSLSQVVMNTM--QSPLTLTEKILL
F.chinensis	VVSLMLNELL----FVSMEREGNGVEVRIPLHRLYSLTQVAQEAV--PNPVTMLNLIIF
M.japonicus	VVSLILSELL----YVSIEREGNGIEVQIPLHRLYSLTQVAQEAV--PIPITMLNLIIF
P.carinicauda	WVKNVVQQAL----LLPVQMEGRHFQLQLFIRRPVHSLPQALSYSVS--LNPVPPVDRALW
M.rosenbergii	VIKNVVQKAL----IVPVQIDGSHFQLQLFIRRPVQSLPQALSYSVS--LNPTPVDRALW
P.hypsiotus	LVKNVVQNAL----FLSVQMEGNDVQVQLFIRRPVYSLPQAFSYAS--MSPVPAIDTALW
P.japonica	VLDKVVQMSL----LSSVQIRGNHIEIQIFIRQPVNSLPQAWKFMS--LNPVPPENLMR
:	:
H.raphidea	ILQRILPV-----EYKPLDRV-----ISSVAVYHGDGYLTTFDGTSTIKLEPESHQQ
O.oratoria	LFQTLIPM-----QYKFFNAL-----TSSPAIYYGDGKMYTFDGMMLKLEVTPQQ
P.trituberculatus	SAEAFNPISVRKILETYNRWVPRNLSALPLSLNQSALVVGDETEILTFDGVLLRMRSSCK
S.paramamosain	SAEGFSPIPVSKILKTYIDWVPRNLSALPLTLNRSALVVGDETEILTFDGVLLRMRSSCK
C.sapidus	SAEAFNPIPVSKVLETYNRWVPRNLSALPVSNQSALVVGDETEILTFDGVLLRMRSSCK
F.chinensis	AYVEYIPIPVSDAIWAFYNFVPRYITDVLPPYPRTATVVGTEILTFSGLVVRAFRSPCK
M.japonicus	AYLEYIPIPVEHAIWAYNFIPRYITDVLPPYPRTAMVVGSEILTFDGLVVRAFRSPCK
P.carinicauda	WLEALMPTSDVNIWVTTYKFLPRHARYLPPFNRTAMVVDGTEILTFDGAVLRVHSPCK
M.rosenbergii	WLEALMPTPIDNILWAHYKFLPRHARYLPPYNHTAMVVDGSEILTFDGVVLRVHSPCK
P.hypsiotus	SFEALMPTPDVNIWVYTFMPRHARYLVPPYNRTAMVVDGTEILTFDGAVLRVHSPCK
P.japonica	LYEAVTLRSTDYLVWGYITLIPRHVTDLLPPFNRTAMVVDGSEILTFDGVVLRVHSPCK
:	:
H.raphidea	YILTTDGYDYVAVTNLPGNKNEFELTVENGRHEIAIDKDYQIYINGTKRTEEEIHSSSHQ
O.oratoria	YILTTDGYDHTVVRVLPENKYEFGITVDNGRHKI IIDSEYKVYFDDQEQTEEKASIDSY-
P.trituberculatus	VLLASVPDVVSIYMSHPQPSQGEVILQAGSTKAI IKPNLEVDVNGQQVHGRQ--TVGD--
S.paramamosain	VLLASVPDVVSVYMSHPQPSGAPEVTLQAGSTKAI IKPNMEVDVNGRQVHGRQ--TVGD--
C.sapidus	VLLASVSDVVSIIYMSHPQPSQAPEITLKAGSTKAI IKPNMEVDVNGQQVHGRQ--TVGD--
F.chinensis	VLLAAHG-SHRLMMSHPQASAPAQLELKTAAATVMIKPDFEVVNGRPLAGSQQTIGN--
M.japonicus	VLLAAHG-SHRLMMSHPQPSGPPQLELNTSAASVVIKPDFEVLVDGRPLTGSQQTIGN--
P.carinicauda	VLPAQYK--THSLMMENQKSSPSPHFIMKAAGATMEVKPDFTVTNGRVPVSGPREVQGE--
M.rosenbergii	VLLAQYK--THSLVMQNPQGHLPHFILKAAGATVEVKPEFVTVNGNVPVSGPREVQGE--
P.hypsiotus	VLLAQHK--SDSLVMQNPQPAQLPHFFLKASGVTVEVKPDFTVTMMGQPI SGPEKVQGE--
P.japonica	VLLAAVK--SHSLIMEHPQSSSSPQVTLKSTGVTVVIKPDHKVTVNGREVSGQEMTEGQ--
:	:
H.raphidea	LIVYQRPMEVVVVSPTLQLLVYKNAPTFRLYASTELQGRLOGVMAAFNDFQGGDIMPNG
O.oratoria	ATVSQHTDEVTAARGSLYLIVSKTSPTFRLYASVERLGRLEGLMGTLNNFQGGDMMMPNG
P.trituberculatus	LVIEVNPFRVTVVSPMLGVQLMKEQRVVI VNAS TWFVNHTRGLLGLYDHERANDRMSNG
S.paramamosain	VVIEVNPHYVTVLVSPTLGVQLMKEERVVMVNAS TWFVNHTRGLLGLYDNERANDRMSNG
C.sapidus	VVIEVNPHYVTVLVSPTLGVQLMKEERVVMVNAS TWFVNHTRGILGLYDNERANDRMSNG
F.chinensis	VRIVNTAEHIEVGCVMKVVVVKAGEAVAVEASGWVFGRAVAGLLGPNNGE IADDRMLPSSG
M.japonicus	IRIVNAAKHIEVGCPLMKVVVAKTGQVVAVEASGWTYGRVAVAGLLGPNTGE IADDRMLPTG
P.carinicauda	VEIVKDQEKIKVRTPFITLVRVYRMSHAASVEVSGWTFGKVAAGLLGTYDGEMGNDWMTPOG
M.rosenbergii	VVIVKENEKIKVRTPFITLVRVYKDSRTASVEVSGWTFGRVAGLLGTYDGEMGNDWMTPOG
P.hypsiotus	VKIFKRAEKIEVMTPFMTLRVYKMSHTASVEVSGWTFGQLAGLLGTYDGEMGNDWMTPSG
P.japonica	VKVVKTSAEIKVLSPFMIVRVFPRNNVISVEVSGWTFGWVAVAGLLGTYDGEMTNDWATSQG
:	:

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งตัวก้นเตี้ยกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกยีนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD

```

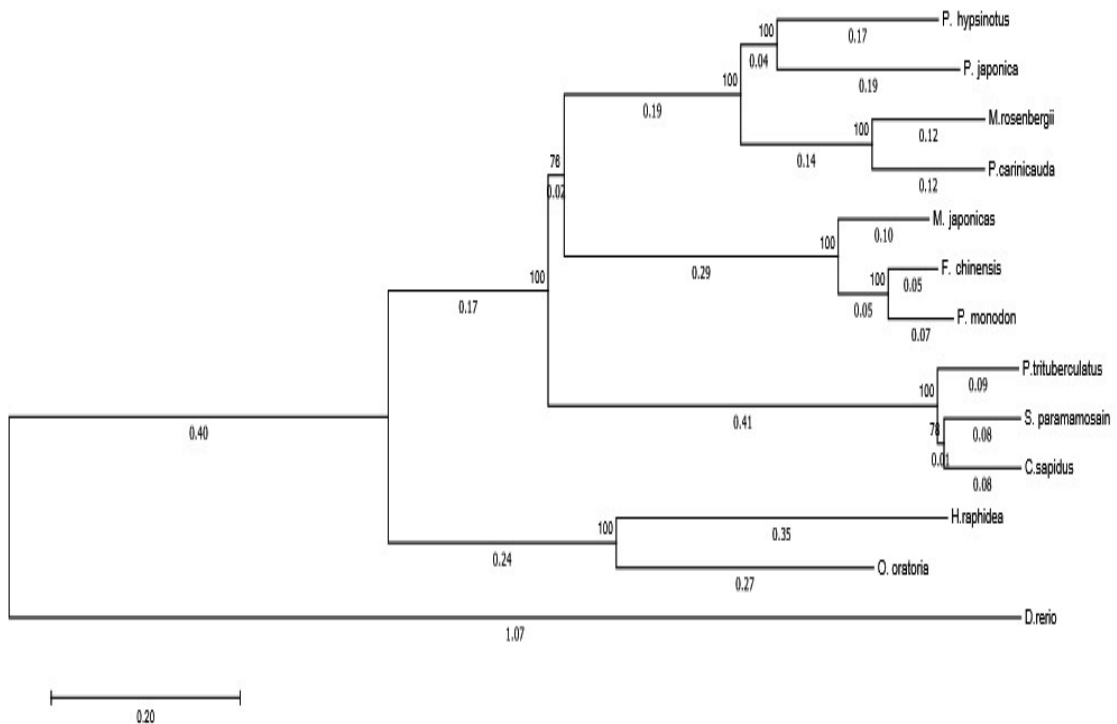
H.raphidea      RITHNPTAFLKSWQVKPSCNHSDAAAHRMWPASCQSNLTTLRFMACKKLTLSG-----TL
O.oratoria      ELAPDAPTFLKSWQVDS-----
P.trituberculatus RNASSLHDLVNSWQENPNCPTPSITPVDP-----MHVPVKESVLCDFLFFQMPCMPVV
S.paramamosain  RNASSLHDLVNSWQENPSCSTPSITPIDP-----THVPVKESVLCDFLFFQMPCMPVV
C.sapidus       RNASSLHDLVNSWQENPSCPTPSITPVDP-----THVPLKESVLCDFLFFQMPCMPVV
F.chinensis     AAASNPRDLVAAWQEDRQCSTPEAPR-----AETTVARLIQCEALLGIRSRCNPVV
M.japonicus     VQASSPRELVSAWQEDQGCSTPEVPR-----SETTVARLIQCQTLLGIRSRCNPVV
P.carinicauda   TWAPNMQELVKSWQENQQCQTPQVAPVSP-----MQVPVVHALHCQALFGVRSRCNPVV
M.rosenbergii  TRASNLQELVKSWQENPQCETPP IAPANP-----MQVPVVHMLHCQTLFGVRSRCNP I I
P.hypsiotus     SRASTLQELVRSWQENQQCQTPSVSPASP-----LQTPVVHMVKCNALFGVRSRCNPVV
P.japonica      SKASSLQELVRSWQEDQQCQTPSISFMSA-----SQTPALRSLQCQALLGIRSRCTPVV
:               :: : ** .
H.raphidea      AKFPFKIYKCNQIQI I I-----KKK-----
O.oratoria      -----
P.trituberculatus SPKPFMQSCRIYSRPFVIRSYQTF CRTQGV--MFPLSVF
S.paramamosain  SPKPFIQSCLIQSRPFVVAHSYQSFCRMQGV--MFPLSIY
C.sapidus       SPKPFIQNCRIHPRPFEAARSYQSFCRMQGV--MFPLSAF
F.chinensis     HPQPF IKMCHAAHKACDAAQAYRTVRS LRGVGEVFP LGC-
M.japonicus     QPQPF INMCHAARNACDAAQAYRTI CALRGVEEMRPWAC-
P.carinicauda   RPEPFRKMCFASRNACHVAKAYRAICETKGIKEVFPLGC-
M.rosenbergii  RTEPFFKMCFASRNACHVAKAYRAMCETKGVKETFPLGC-
P.hypsiotus     RQEPFMKMCFASRNACHVARAYSAMCATKGVKEVFPLGC-
P.japonica      RPEPFIKMCHSSRSACDVARAYNAICSSKGVKDVFP LGC-

```

ภาพที่ 3-21 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้งกั๊กแตนนางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ Genbank ด้วยวิธี Nucleotide blast โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกสปีชีส์ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน vitellogenin ใช้สัญลักษณ์สีดำ ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ Signal peptide, สีฟ้าคือ LPD\_N, สีเขียวคือ DUF1943, สีแดงคือ VWD



เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีนไวเทลโลเจนินในกิ้ง  
 ตั๊กแตนหางจุด ที่ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในเดคาพอดครัสเตเชียนหลายชนิด โดยใช้  
 โปรแกรม MEGA6 พบว่ามีความสัมพันธ์กับกิ้งตั๊กแตน *Oratosquilla oratoria* มากที่สุดที่ 100 %  
 โดยมีระยะห่างของความสัมพันธ์เป็น 0.62 ทำให้ทราบว่ายีนที่ผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินในกิ้งตั๊กแตน  
 มีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มกิ้งตั๊กแตน กุ้ง และปูชนิดอื่น ๆ  
 ดังภาพที่ 3-22



ภาพที่ 3-22 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ทำหน้าที่ผลิต  
 ไวเทลโลเจนินในสัตว์กลุ่มกิ้งตั๊กแตน กุ้ง และปูที่มีการระบุในห้องสมุดยีน โดยใช้ *O. oratoria*  
 (ALI16501.1), *P. trituberculatus* (AAX94762.1), *S. paramamosain* (ACO36035.1),  
*C. sapidus* (AFI59132.1), *F. chinensis* (ABC86571.1), *M. japonicus* (BAD98732.1),  
*P. carinicauda* (AFM82474.1), *M. rosenbergii* (BAB69831.1), *P. hypsinotus* (DAD11098.1),  
*P. japonica* (AHD26978.1), *P. monodon* (ABB89953.1) และ *D. rerio* (XP\_009294676.1)



### 3.3.2 ยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่งตึกแดนทางจุดพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดทั้งหมด 2,715 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 905 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,386 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 462 ตัว โดยยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.51e-39$  และ HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $1.2e-24$  ดังตารางที่ 3-25 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีความคล้ายกับของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในปูขาว *Scylla paramamosain* ปูม้า *Portunus trituberculatus* ปลวก *Zootermopsis nevadensis* เหาตามลำตัว *Pediculus humanus corporis* จิ้งหรีด *Teleogryllus emma* แมงมุม *Stegodyphus mimosarum* ตัวงสนภูเขา *Dendroctonus ponderosae* โคฟีพอด *Tigriopus japonicas* และแมลงวัน *Fopius arisanus* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-25

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-23

**ตารางที่ 3-25** โดเมนที่พบบนยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ่งตึกแดนทางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
low complexity	13	22	N/A
low complexity	43	63	N/A
low complexity	89	99	N/A
ZnF_C4	128	199	$1.51e-39$
HOLI	271	430	$1.2e-24$

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนจากภาพที่ 3-23 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-24

ตารางที่ 3-26 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ้งก่าแตนหางจุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Identity	Accession
Estrogen-related receptor [ <i>Scylla paramamosain</i> ]	638	638	50%	0.0	76%	ADB43256.1
Estrogen-related receptor protein [ <i>Portunus trituberculatus</i> ]	614	614	43%	0.0	81%	AIS76179.1
Estrogen-related receptor gamma [ <i>Zootermopsis nevadensis</i> ]	470	470	40%	3e-153	64%	KDR06670.1
Retinoid X receptor, putative [ <i>Pediculus humanus corporis</i> ]	443	443	40%	2e-142	60%	XP_002431237.1
Estrogen receptor-like protein [ <i>Teleogryllus emma</i> ]	441	441	37%	3e-142	65%	ACW844414.1
Estrogen-related receptor gamma [ <i>Stegodyphus mimosarum</i> ]	440	440	39%	7e-141	62%	KFM71034.1
Hypothetical protein YQE_02252 [ <i>Dendroctonus ponderosae</i> ]	433	433	40%	8e-139	61%	ENN81341.1
Hypothetical protein D910_05107 [ <i>Dendroctonus ponderosae</i> ]	432	432	40%	2e-138	61%	ERL87717.1
estrogen related receptor [ <i>Tigriopus japonicus</i> ]	429	429	39%	4e-136	60%	AID52852.1
PREDICTED: steroid hormone receptor ERR2 isoform X2 [ <i>Fopius arisanus</i> ]	426	426	39%	5e-136	61%	XP_011312293.1

```

-360: catgcaaccgcgccattgtggtgccacagggagccgcgacagcaccataaagggtgcctc :-301
-300: cttgtcatagtgcaagtgctcatttagtgagtgaccggaatacaacgaaaccatctgt :-241
-240: ctaagactgtaaatttggcgcgctctcgggcggaagtgaatagtcggtggtgctgcct :-181
-180: ctctcagcgggatcacaaaccgcgcgatggcaaaactcctcttcgacctgtgagoga :-121
-120: tactacaacattttgtgacactttcccacttctgtttcgccctgtcctcccagactctc :-61
-60: cgcaacgacggatgggagaggtggaggcaaggcgaacacagtcgaagtttaagtaacg :0
1: ATGCAGAGCTGGCAAGATAACTTGGTGTGATGATGAGCAGTAGCGGTGAAGGGGGGTG :60
M Q S W Q D N L V C M M S S S G E G G V
61: GGGGGCACTGCACACATCAAACAGGAGGATGGGGGAGTCTGCGCTCCCCCTTCTCCTCGT :120
G G T A H I K Q E D G G V C A P P L P R
121: GGCAGAGTTCCTTCTGTCTCTCCCTCCAGTGTCTACTCTCCACCCTGTACTCCCCA :180
G R V P S C S S P P S V Y S P T V Y S P
181: TCACCACGGCACTCCCATCAGAGTGGACTACAGCGAATGTGGGGACGACCTACAACCT :240
S T T A L P S E L D Y S E C G D D L Q P
241: TCGCCCAACACATGAAGCTGTACAGCGACTCTCCACCATCACCGCCCTCCCCGACCGC :300
S P K H M K L Y S D S P P S P C S P D R
301: CAGTTCTGTTCCTCGACAACAGTATGGCAGGGGACATGGCATCCAGCCTTCCGTGGGT :360
Q F C S S T T S M A G D M A S T P S V G
361: GTCAAAGAGGATGAACTCCTAAACGAATGTGTTAGTGTGTGGCGATATTGCATCAGGA :420
V K E D E T P K R M C L V C G D I A S G
421: TTCCATTACGGGTGTAGCTTCTGTGAAGCTTGCAAAGCTTTCTTCAAAGAATACAG :480
F H Y G V A S C E A C K A F F K R T I Q
481: GGCAATATTGATTACACCTGTCCGGCTACTAATGACTGTGAAATCAACAAGAGACGGCGG :540
G N I D Y T C P A T N D C E I N K R R R
541: AAGGCCTGTCCAGCGTCCCGGTCCACAAGTGTCTGCGAGTAGGAATGCTCAAGGAAAGGT :600
K A C Q A C R F H K C L R V G M L K E G
601: GTCAGGTTAGACAGAGTGCAGGTTGAAGGCAGAAGTATCGTCGACGCCTGAATCCCCA :660
V R L D R V R G G R Q K Y R R T P E S P
661: TACTCCATCCACAGCCTCCAGTCAAAAAGGCATCCCTTGAAGACATCAAACCTGCTGGCA :720
Y S I H Q P P V K K A S L E D I K L L A
721: TCACTCAGGCATGTGAACCAGAGCCCTTACTTGCACGACTGATCTGACTGCTTCTGAT :780
S L R A C E P E P L L A R P D L T A S D
781: CCTGAGTTTGTACAGTTTCCACACTTGCTGAAGTATATGACAGAGAACTGGTTGCAACG :840
P E F V T V S T L A E L Y D R E L V A T
841: ATAGGCTGGGCAAGCAGATACCAGGTTTACACAGAGCTAACTCAAATGACCGATGAGG :900
I G W A K Q I P G F T E L T L N D Q M R
901: TTACTGCAGAGCACCTGGGGAGAAATCTTACCCTAGGCTAGCTTATCGTCCATTCTT :960
L L Q S T W G E I L T L G L A Y R S I P
961: GCTCATATGCATACACTCACCTTGCACGTGACTTCCGATTGGATGAAGAACAGGCCAGA :1020
A H M H T L T F A R D F R L D E E Q A R
1021: GATTGTAATGCGACAGAGCTTTTACACAGGTTGCGAGGTTGGTTGAACGACTGGAACAG :1080
D C N A T E L F T Q V A G V V E R L E Q
1081: TGTAACATCAACAAGGAGGAGTTTCTGATTTTGAAGCCCTTGTGCTCACAAATTCAGAT :1140
C N I N K E E F L I L K A L V L T N S D
1141: GTTCGACTCCAAGATGTTCAAGCATTACACAGACTACGACAAAATATACTCCAAGCTCTC :1200
V R L Q D V Q A L H R L R Q N I L Q A L
1201: CATGACACAGTTTACAGTGAAGATCACAGAGGTTGGTGGCACAAGTGCAGGCTTGCCTT :1260
H D T V S A V R S R E V V A Q V Q A L L
1261: TTATGCTGCCTTCATTAAGAGCAGCAGATGCAGCCTTGAGACGCTACTGGCTTTCAGTG :1320
L C L P S L R A A D A A L R R Y W L S V
1321: CGCCACCAGGATTTGTTCCATGAACAACTCTCATAGAGATGCTTGAGTACATATG :1380
R H Q G I V P M N K L F I E M L E S H M
1381: CGATGAggtcaecgtaataactcccactctggtgtgtgctgctgctgcaaccttcaagc :1440
R *
1441: aaggcccaacgattgccaagtacagatggacttaggcaatgatgcaagttcctctcccttg :1500
1501: ctgccttctctctcccacaaaggcaatggcctctacaagatggttgcaacagtgcaatca :1560
1561: gacagtggtgctgtcacatgaaccatttctctctgctgtagccagcaagatggaaaa :1620
1621: tgtgtgcaagactaaacaacgatcaggagagtagtgcaaggtttgtggaccaaggat :1680
1681: gtcttggaggtgcatagtggtgcatataatgggagacttctgtgtcctcatcagctg :1740
1741: caataaaatgcagactcctgcctttccagaaagtcaaaactttaagccttgggcaagag :1800
1801: gacacctcaagtaaatgagaaccaaggagagagcagcagcataaatgcaaatggc :1860
1861: atgttctgctgctatttgggtacataaaagtgtacataaatagttacctaaccttaaggat :1920
1921: ctacagggcactgtcctgacctacagtacaagttaacacctgggcaacttgactaaatgt :1980
1981: cctggagagtgagaatgtgtgtgcttgggctgctaaatgcaatgggtggtgactgctg :2040
2041: acgaccactacctcccatcacaagcctccatcagccacatggataaatgtggacagc :2100
2101: ctggcactatgcctgcccagcttctgtggtgccaactacctaccagcaaccacaagt :2160
2161: gtgcaaggtgaaagctgcatggagctgtgttctgtcatgtttccacaacaagacaag :2220
2221: cagcagtcagggtgacaacacctaggtgtaaatttgttgaatgacgacgttacctgt :2280
2281: gcttgggtggtgtgtgttattgctgttattgtgttattgtgggtgccagggaccctgc :2340
2341: ctgcctagaactggc :2355

```

ภาพที่ 3-23 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่งตึกแทนทางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4, สีฟ้าคือโดเมน HOL1 และสีชมพูคือ Transcription termination signal

```

S.mimosarum -----MAFSRMYGL
H.raphidea6598 -----MQSWQDN-----LVCM
S.paramamosain MESGGDVMPDLLEYHMTEDASGGASPGVSSSTSNQAF LMDNWWVHQLY-----EQVCM
P.trituberculatus -----
F.arisanus -----MYD-----TTTMDTWI-----HDVV-----CM
T.japonicus -----MFE-----TESERRLLASSLMIRLMDVPEIGTGASEDS
D.ponderosae7 -----
D.ponderosae8 -----
T.emma -----
Z.nevadensis -----M
P.corporis -----MDL-----ERRRGEYN

S.mimosarum MAGH-----SSVIVSQIKSEDP-----SDVS--SGSLC
H.raphidea6598 MSSSGEGGV--GG-----TAHIKQEDGGVCAPP-----L---PRGRVPSCSSPSPS
S.paramamosain MSGGGSSEGGPG-----VGHIKQEDGGYGAAP-----TTHHPRARQLSCSSPNT
P.trituberculatus -----MK-----HNRMKQELDDFL-----SFTSDSPDT
F.arisanus MSGNVSE---NMIS---SNRLLPGIKQEVNDPTASQ-----NYHQSCSPS--
T.japonicus LSGSGFDLPGELVQSDLILTLHPDFGSENNGPASTSDGKTSTSSNEDKMDYSES--QSS
D.ponderosae7 MSDPGVHPENV-----PSIKKEL-----DSFAECSPSNS
D.ponderosae8 MSDPGVHPENV-----PSIKKEL-----DSFAECSPSNS
T.emma MSDDTRAVLRL-----KNQ-----
Z.nevadensis MSTDGTGMTPT-----PHIKKEE-----DPASFQACSPSNS
P.corporis MSGDGAPILAI-----SHIKKEV-----DGSGLACSPSNS
.:

S.mimosarum PSSPHIYSPNSGLSNSQTDFSH---RTMGPVVDSKSKSQCSPEQMSLELYSGKMGDQS
H.raphidea6598 VYSPTVYSPSTTALPS-----ELDYSECGDDL---QSPK--HMPLY---SDS
S.paramamosain T--AV-YSPTTTAAIPS-----ELDYSECGDEA---QSPK--HMKLF----TDS
P.trituberculatus L--VREDVMIVTSSQC-----LLDYSECGDEA---QSPK--HMKLF----TDS
F.arisanus -----TTIQPISEVTI---KMDMG-----DY---SGG
T.japonicus PLSDDQNSPKIKLFDGDNLALQTHLRQLSSLD-----G--STGST----VVR
D.ponderosae7 ---NLYSPTTTTTIISENVIQSS-DRIDYGEHY-----DGK
D.ponderosae8 ---NLYSPTTTTTIISE-----NRIDYGEHY-----DGK
T.emma ---SDAYPSKLT--I-----QCVTWAPHQ-----Q--LHCRK----R--
Z.nevadensis ---NMYSPTTTVLH-----NDMEYCESQ-----D--SRRYE----VSQ
P.corporis STSTNIYSPMKTELP-----NQMDYGNLQ-----E--MNCYD----VTH

S.mimosarum PSSPGCLESHHQDMFC$STMSGDGISAVVVSNSEGK--SGDSEKRLCLVCGDIASGYHYGV
H.raphidea6598 PPSPPS----PDRQFC$STTSMAGDMASTPSVG--VKEDETKRMCLVCGDIASGFHYGV
S.paramamosain P---PS----PDRQFC$STTSMTSDSTNTPSES--LREDDGFKRSCLVCGDIASGFHYGV
P.trituberculatus P---PS----PDRQFC$STTSMTSDSTNTPSES--LREDDGFKRSCLVCGDIASGFHYGV
F.arisanus RASPGS----PEMQHCS$STTQPLGT-----SEGVIKEEDMIRRVCLVCGDVASGFHYGV
T.japonicus PSSSES----PDQHCS$STTQPIMDGHLLSADSIAK--DEDGFKRICLVCGDVASGFHYGV
D.ponderosae7 MRSPDS----PDRQYCS$STTQPHDPGIGHSEIDLKNEDDSPRRLCLVCGDFASGFHYGV
D.ponderosae8 MRSPDS----PDRQYCS$STTQPHDPGIGHSEIDLKNEDDSPRRLCLVCGDFASGFHYGV
T.emma -----NRSAQNEALGARRFGEWQYEGG--YDGGFRRLCLVCGDVASGFHYGV
Z.nevadensis SRSPGS----PDRQYCS$STTQPLGDSMLGHAEVRMK--EEDLFRRLCLVCGDVASGFHYGV
P.corporis SRSPES----PDQQFC$STTQFVGEASVNNAEGER--EDDLFRRLCLVCGDVASGFHYGV
*: . *: * * * * * . * * * : * * * *

S.mimosarum ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPASNDCEINKRRRKACQACRFQKCLRMGMLKE$VRLDR
H.raphidea6598 ASCEACKAFFKRTIQGNIDYTCPATNDCEINKRRRKACQACRFHKCLRVGMLKE$VRLDR
S.paramamosain ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPAANDCEINKRRRKACQACRFHKCLHVGMLKE$VRLDR
P.trituberculatus ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPAANDCEINKRRRKACQACRFHKCLHVGMLKE$VRLDR
F.arisanus ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPANGCEINKRRRKACQACRFQKCLRQMLKE$VRLDR
T.japonicus SSCEACKAFFKRTIQGNIETYCPASSDCEINKRRRKACQACRFQKCLRMLKE$VRLDR
D.ponderosae7 ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPASGDCEINKRRRKACQACRFKCLRSGMLKE$VRLDR
D.ponderosae8 ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPASGDCEINKRRRKACQACRFKCLRSGMLKE$VRLDR
T.emma ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPAANDCEINKRRRKACQACRFQKCLRMLKE$VRLDR
Z.nevadensis ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPASNDCEINKRRRKACQACRFQKCLRMLKE$VRLDR
P.corporis ASCEACKAFFKRTIQGNIETYCPAANDCEINKRRRKACQACRFQKCLRMLKE$VRLDR
: * * * * * : * * * * : * * * * * * * * * : * * * * *

```

ภาพที่ 3-24 การแสดงความคล้ายคลึงของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่งตึกแทนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน estrogen related receptor ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOL1

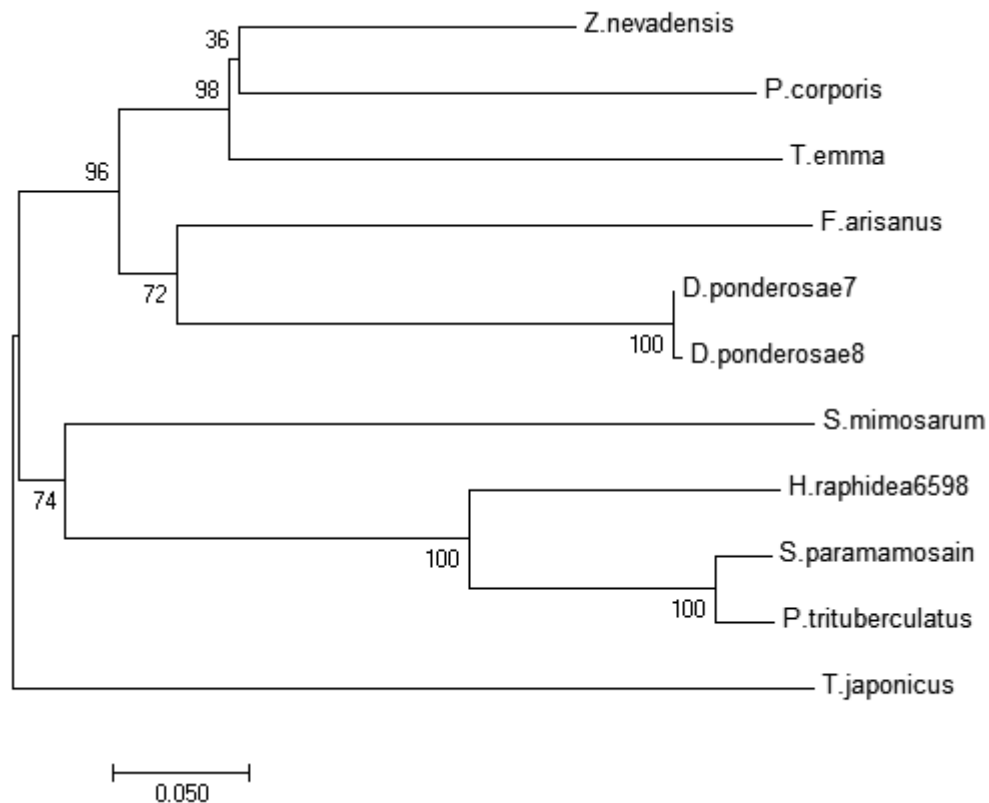
```

S.mimosarum      VRGGROKYRR CQESPYQVHPV---PCKKPSLEENKIIAALVMCEPEPLQAQANPALPESH
H.raphidea6598  VRGGROKYRRTPESPYSIHQP---PVKKASLEDIKLLASLRACEPEPLLRAPDLTASDPE
S.paramamosain  VRGGROKYRRTTESPFSLQQM---PVKKVSLDENKLLKSLISCEPDSLYALSDVTVSDAD
P.trituberculatus VRGGROKYRRTTESPFSLQQM---PVKKVSLDENKLLKSLISCEPDSLYALSDVTVSDAD
F.arisanus      VRGGROKYRRATDPYL-----PVKTVTLDNKNVIEAL IACEPDTLQVFNVAHTLDTD
T.japonicus     VRGGROKYRRMIESPYGGLH----PARKLSLEENKLLIALTRCEPEPLLPDNLDPDDQ
D.ponderosae7   VRGGROKYRRNPESPYQVVSAQKPH-ILLEDIKMLEALVSCPEPDSLEIN--TTLDHTK
D.ponderosae8   VRGGROKYRRNPESPYQVVSAQKPH-ILLEDIKMLEALVSCPEPDSLEIN--TTLDHTK
T.emma          VRGGROKYRRNPDLPYQVAFMPRP--VLSLDENKMLKALTSCEPDLLLASPDTSIVDLE
Z.nevadensis    VRGGROKYRRNPDPYQVPLPPIKP-IPTLEENKMLEALSSCEPEILLASHDSSLSDPE
P.corporis      VRGGROKYRRNTDTPYQIHSMLPLKPYLPSLEDNKILEALSLNEPDISVMAQDISNADPA
*****      :          *:: *:: *:: *:: *::
S.mimosarum      FKTISTLSLDVLDRELVAIGWAKQIPGFTELDLNDQMRLQTTWAEILSLSLAYRSYQSA
H.raphidea6598  FVTVSTLAELYDRELVAIGWAKQIPGFTELDLNDQMRLQSTWGEILTLGLAYRSIPAH
S.paramamosain  FHTISTLADLYDRELVSTIGWAKQIPGFTELDLNDQMRLQSTWGEILILGLAYRSMFAH
P.trituberculatus FHTISTLADLYDRELVSTIGWAKQIPGFTELDLNDQMRLQSTWGEILILGLAYRSMFAH
F.arisanus      QRVLGQLSDLYDRELVGIIGWAKQIPGFSGALNDQMRLQSTWAEILTFCLAWRSIPN-
T.japonicus     YKTLTTLSEFYDRELVTIGWAKQIPGFGLSLNDQMRLQFWSWEILTLTLVFRSLPR-
D.ponderosae7   HRTLSTLSLDLYDRELVGIIGWAKQIPGFSDLSLNDQMRLQSTWAEILTLTLAFRSLPMI
D.ponderosae8   HRTLSTLSLDLYDRELVGIIGWAKQIPGFSDLSLNDQMRLQSTWAEILTLTLAFRSLPMI
T.emma          LRVVSTLSLDLYDRELVGIVSWAKLIPGFTELDLNDQMRLQSTWAEILTLALAFRSLGQ-
Z.nevadensis    YHIMSTLSLEYDRELVLIIISWAKQIPGFTELDLNDQMRLQSTWAEILTLTLTYRSLSC-
P.corporis      VRTLNLISLDLYDQELVKIITWAKHIPGFLELDLNDQMRLQSTWAEILTLTYRSLPG-
: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *::
S.mimosarum      SSPPKLIIFTSDFTMDEQQATECRASEIFSRICRLVKRLDVLNIAREEYLKALLLNAD
H.raphidea6598  --MHTLIFARDFRLDEEQARDCNATELFTQVAGVVERLEQCINKEEFLILKALVLTNSD
S.paramamosain  --AHTLQFAPDFSLDEKQARECNATELFTQVAGVVERLEQCINREEFLLLKALVLTNSD
P.trituberculatus --AHTLQFAPDFSLDEKQARECNATELFTQVAGVVERLEQCINREEFLLLKALVLTNSD
F.arisanus      --TGRLNFAADFALTEAQAQNSGLQDFHHCRTIERMERLGMKREEFLILKALVLTNSD
T.japonicus     --TGRLNFAADFALTEAQAQNSGLQDFHHCRTIERMERLGMKREEFLILKALVLTNSD
D.ponderosae7   --SLGRKFAIDFTLDEKQSKDCGALELYQCTTHMVERLESLSILKEEYLLKALVLTNSD
D.ponderosae8   --SLGRKFAIDFTLDEKQSKDCGALELYQCTTHMVERLESLSILKEEYLLKALVLTNSD
T.emma          --GGKLRFAADFSLDEKLARDCSVLEVYQCHMHIWERLERLAIIEEYVYLKALVLTNSD
Z.nevadensis    --TGKLRFAADFSLDEKQARECGAILEYQHCMQIIERLERLSIAKEEYIMKALVLTNSD
P.corporis      --TGEKLRFAADFSLDEKQARECGAMDIYQCHMHIWERQEKLNITKEEYIILKALVLTNSD
* * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
S.mimosarum      IQLEDSKSVYKLRDITLGLTDCVTIFRRTSYVQHLNQLLLCLPRLRQDVEVRLFWNNV
H.raphidea6598  VRLQDNQALQRLRQNILQALHDTVSAVRSREVVAQVQALLCLPRLRAAD AALRRYWLSV
S.paramamosain  VRLQDNQALQRLRQNILQSLHDAVATIRLRDAVVMQSLLLCLPRLRAAD AALRRYWLSV
P.trituberculatus VRLQDNQALQRLRQNILQSLHDAVATIRLRDAVVMQSLLLCLPRLRAAD AALRRYWLSV
F.arisanus      IRLDEPQSLYLRDSDILNSLSDCAAVRPGOTMRATQNMFLVMPSLROAD;IVRRFWSSV
T.japonicus     VRVEEQSALWRLRDNLLSALYDCVAVIRSGNPAIHVNILLLLPSIROAD;SLVRFWRKV
D.ponderosae7   VRLDEYQSLRNRFRDSILTSLTDAGILRPNTMLQQIQQLLLCLPALROAD;VVRFRFSDI
D.ponderosae8   VRLDEYQSLRNRFRDSILTSLTDAGILRPNTMLQQIQQLLLCLPALROAD;VVRFRFSDI
T.emma          VRMDDLAAALKKFRDITLAAALSDCAVVRSSSASHMQQLLLCLPALROAD;VIRRYWTAV
Z.nevadensis    VRMDEFVSLKFRDILSALSACVAVIRPNTSTYHMHLLCLPRLROAD;VIRRYWTGI
P.corporis      VRIDDLPLPKLRDNLISALADCAVLRPNTTSLHMNHLCLPALROAD;INRRFWTAV
::::: : *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *:: *::
S.mimosarum      RKEGKVPMNKLFVEMLESNVPLW
H.raphidea6598  RHQGI VPMNKLFIEMLESHMR--
S.paramamosain  RHQGSVPMNKLFIEMLESHMR--
P.trituberculatus RHQGSVPMNKLFIEMLESHMR--
F.arisanus      YRTGKVPMNKLFVEMLEAASYR-
T.japonicus     QASGKLQLNKLFLVEMLEAQSSK-
D.ponderosae7   HTQNLVPMNKLFIEMLEASNR--
D.ponderosae8   HTQNLVPMNKLFIEMLEASNR--
T.emma          HREGKAPMNKLFVEMLEANFR--
Z.nevadensis    HREGKVPMNKLFVEMLEAYFR--
P.corporis      HREGKVYMNKLFVEMLESYIR--
*****      :

```

ภาพที่ 3-24 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่ง ต่อกันตามจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน estrogen related receptor ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่ฟ้าคือโดเมน HOL1

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยลำดับกรดอะมิโนของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ่งตึกแทนหางจุดโดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับปูม้า *Portunus trituberculatus* และปูขาว *Scylla paramamosain* มากที่สุดที่ 100 % ทำให้ทราบว่ายีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ่งตึกแทนหางจุดมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มจิ้งหรีด โคฟีพอด และแมลงชนิดอื่นๆ ดังภาพที่ 3-25



ภาพที่ 3-25 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ่งตึกแทนหางจุด ที่มีการระบุในห้องสมุดยีน โดยใช้ *S. paramamosain* (ADB43256.1), *P. trituberculatus* (AIS76179.1), *Z. nevadensis* (KDR06670.1), *P. corporis* (XP\_002431237.1), *T. emma* (ACW84414.1), *S. mimosarum* (KFM71034.1), *D. ponderosae*(YQE) (ENN81341.1), *D. ponderosae* (D910) (ERL87717.1), *T. japonicus* (AID52852.1) และ *F. arisanus* (XP\_011312293.1)

### 3.3.3 ยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในของกิ้งกั๊กแทนหางจุดพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 2,039 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 697 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,428 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 476 ตัว โดยยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $3.93e-38$  และ HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $7.18e-46$  ดังตารางที่ 3-27 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของซีเอ็นเอ็นเอจากกิ้งกั๊กแทนหางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีความคล้ายกับของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในหนอน *Saccoglossus kowalevskii* มอด *Tribolium castaneum* แมงดาแอดแลนติก *Limulus polyphemus* แมลงวัน *Fopius arisanus* และหอยนางรม *Crassostrea gigas* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-27 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-28

ตารางที่ 3-27 โดเมนที่พบบนยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในกิ้งกั๊กแทนหางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
ZnF_C4	26	97	$3.93e-38$
HOLI	159	322	$7.18e-46$
low complexity	368	388	N/A
low complexity	399	415	N/A
low complexity	434	446	N/A

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนจากภาพที่ 3-26 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-27

**ตารางที่ 3-28** การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในห้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในungskกแแตนทางจุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E-value	Identities	Accession
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like [ <i>Saccoglossus kowalevskii</i> ]	475	475	49%	1e-157	72%	XP_002731047.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma isoform X10 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	471	471	54%	2e-155	65%	XP_008196276.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma isoform X3 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	469	469	54%	9e-155	64%	XP_008196269.1
hepatocyte nuclear factor 4 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	469	469	54%	1e-154	64%	EFA07427.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma isoform X5 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	469	469	54%	1e-154	64%	XP_008196271.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma-like [ <i>Limulus polyphemus</i> ]	466	466	52%	4e-154	68%	XP_013779786.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4- isoform X2 [ <i>Fopius arisanus</i> ]	467	467	48%	4e-154	70%	XP_011302608.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma-like [ <i>Limulus polyphemus</i> ]	466	466	49%	6e-154	72%	XP_013791686.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma-like isoform X3 [ <i>Crassostrea gigas</i> ]	467	467	50%	7e-154	69%	XP_011451246.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma isoform X6 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	466	466	54%	9e-154	63%	XP_008196272.1



```

-364:                                                                                                     gaca :-361
-360: gattgagtgttaactctgacacaactcttcagtcatttattcctcaccacttcgagtggtg :-301
-300: aagggtccagttcccttaagtgttagtggtctctctagaacgttcttaagcacacgggga :-241
-240: ggaaaattgtagagtttagtgagaagctgttgtagtgaaatgatgactcaagtctcat :-181
-180: gctgcaggaagactgtgattgggtgaggtgctcggattctcgatgtgaagaactcca :-121
-120: cgaatatcaagtctgcaatagagaaagatttctctcttaggtacagctgaccaagagatc :-61
-60: tgcctggtgtagtcatctcagacactcatcctcggcgttgggcacctccacgccattggac :0
  1: ATGTCTCCCCTGGGGCGAAATCTCCACGACGCTATGTCTTCCCGCAGAGTGGTACT :60
    M S P V G A Q I S T T P I A S P Q S G T
  61: GTCGGATTGAGTGGTGTAAATGACGTGCACCATATGTGGAGACCGAGCTACAGGAAAGCAT :120
    V G L S G V M T C T I C G D R A T G K H
  121: TATGGGGCTCATTCCCTGTGATGGGTGTAAGGGGTCTTTAGAAGATCTGTGAGGAAGAAG :180
    Y G A H S C D G C K G F F R R S V R K K
  181: CACACTTATTCCCTGTAGGTTCAACAGAAATTTGTGTCGTGGACAAAGATAAGCGTAATCAG :240
    H T Y S C R F N R N C V V D K D K R N Q
  241: TGGCGCTATTGTGCGACTAAGAAAATGCATTTCGAGCTGGGATGAAAAAGAAAGCTGTACAG :300
    C R Y C R L R K C I R A G M K K E A V Q
  301: AACGAAAGGGACCGGATCAGTCAGCGAAGACCGAGCTACGAGGAGACGCCAGGCGCCAAC :360
    N E R D R I S Q R R P S Y E E T P G A N
  361: GGGGTGCTTTGTGCCATTCCTGAATGCAGAGAATCTCCCGTCAGTATTCTCCAGTG :420
    G V S L S I L L N A E N F S R Q Y S P V
  421: AAAGGAGAAGTCTCAATGGCGAACAAGACCGTGGCTGGAGTGATGGAAGTCTGTGAGAGC :480
    K G E V S M A N K S V A G V M E V C E S
  481: ATGAAACAACAGCTTCTTATCCTTGTGGAGTGGGCCAAGTACATCCCAGCTTTCTGTCAA :540
    M K Q Q L L I L V E W A K Y I P A F C Q
  541: CTCACACTTGATGACAGGTGGCATTGTGCGCGCCATGCAGGGGAACACCTTCTCCTG :600
    L T L D D Q V A L L R A H A G E H L L L
  601: GGTCTGGCCCTGGCGTTCCCTCAACCAGGACGACCTGCTCCCTAGGGAACGATTACGTA :660
    G L A W R S F N Q D D L L L L G N D Y V
  661: ATCCCTAGACATTCTTCAGGAAGAAGGAATCCAGAGGCAGAGATGAGTCGAATCGCGCT :720
    I P R H S S G R R N P E A E M S R I G A
  721: CAGTACGAATCCCAGGCTCGTCAAACCTCTTCGACAAGTCAATCTGGACGACAGTGGTTC :780
    R I L D E L V K P L R Q V N L D D S E F
  781: GCGTGTGTAAGGCCATTGTCTTCTCGACCCAGTATTTCGAGGCCCTCAACGACATCAAC :840
    A C L K A I V F F D P V I R G L N D I N
  841: CGTGTCAAGGCTCTTCGATACCAAGTCAACTGATTCTGGAGGATTACGTGAACGACAGC :900
    R V K A L R Y Q V Q L I L E D Y V N D S
  901: CAGTACGAATCCCAGGCTCGCTTTGGGGAGATCCTCTTGACCTTACCTCTCTTCAGTCT :960
    Q Y E S R G R F G E I L L T L P S L Q S
  961: ATCACGTGGCAGATGATCGAACAAGTGCAGTTCGTCGAAGCTCTTCGGCGTGGCGCACATC :1020
    I T W Q M I E Q V Q F V K L F G V A H I
  1021: GACACCTTCTTACGAAATGCTTCTCGGAGGAGCGAGTAGTGACGGCAACAACGGCACC :1080
    D T L L Q E M L L G G A S S D G N N G T
  1081: GGCACATAACCGAGCCAGCTACGGGGTGGCGCGGGGGATCGGTACAGGGACTCCAGCT :1140
    G T N Q A S Y G G G A G G I G T G T P A
  1141: CCCCTCCAGGAGTCCCGGCCCTGCTTCCCGATCAGCCACGGGGTCAACAATAGCGGT :1200
    P L P G G P G P C F P I S H G V N N S G
  1201: GCGACGGGCTCCCTCCACACACAACGACTTCGACTGACTCGGGTGTCCGTTGTCCGCG :1260
    A T G S S T H T T T S T D S G V P L S A
  1261: CAGAGCGAGATGTCCCTCCACGGGCAGTGGCGTATTACGTCTTCTGCTCCTCGTCCAGC :1320
    Q S E M S L H G H V G V I T S S S S S T
  1321: TCGTCTTGGTAACGTCTCGGGACATCGATCTGACGACTGAGGACCAGTACAAGTCTCTG :1380
    S S L V T S R D I D L T T E D Q Y K L L
  1381: GCGCCCGCTTCAAGCCGAGCTTCTGGATCAGAACTATGATGCATGAagaacctctctt :1440
    A P P F K A E L L D Q N Y D A *
  1441: gatgatctgtgaccaggcgaaactcagaacaaacacgatgtcataaaagttaaaactcg :1500
  1501: ataggtgcaacattccttaattatgcatacttcaaatgaaatgaaggaaagtaaattaa :1560
  1561: cgttgaaaaaatgtgtatatatatataataataataataatagtaaatgataat :1620
  1621: aatacatgtatatgcacacacaatttacatgattatagtggtcaggtcattaaag :1675

```

ภาพที่ 3-26 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในดับของกิ่งตึกแทนหาจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4, สีฟ้าคือโดเมน HOLI และสีชมพูคือ Transcription termination signal

```

S.kowalevskii -----MMLNLDGITYIHLDSPMTMGALG---
C.gigas
F. arisanus MTNR-----R---ITRARMAAKSKEslaETHDVtNSKEEPpGSPSADLsmGTGGTGAT
T. castaneum10 MPSSYCSTSPGEISISDGEVD--GTDYLLSS--TIKLDFNFQILADTEMTMAASNNLSLT
T. castaneum3 MPSSYCSTSPGEISISDGEVD--GTDYLLSS--TIKLDFNFQILADTEMTMAASNNLSLT
T. castaneum4 MPSSYCSTSPGEISISDGEVD--GTDYLLSS--TIKLDFNFQIL-DTEMTMAASNNLSLT
T. castaneum5 MT--FST-----FS--NME--EQQ-----VILTLADTSPSTADTEMTMAASNNLSLT
T. castaneum6 MT--FST-----FS--NME--EQQ-----VILTLADTSPST-DTEMTMAASNNLSLT
s.kowalevskii20511 -----MSPVGA-QISTT
L.Polyphemus1 -----MTP
L.Polyphemus2 -----MPSPTLRADAVLTTTK

S.kowalevskii -----MNGTSAIAVCATCGDRATGKHYGASSCDGCKGFFRRSVRKNHVYSQRFNRNC
C.gigas PMPsAGSTSPtQGMsQFCATCGDRATGKHYGASSCDGCKGFFRRSVRKNHVYSQRFNRNC
F. arisanus VLGIpGsgV--GGVjLshCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
T. castaneum10 ATlSSGSAAGVAQMSQHCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
T. castaneum3 ATlSSGSAAGVAQMSQHCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
T. castaneum4 ATlSSGSAAGVAQMSQHCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
T. castaneum5 ATlSSGSAAGVAQMSQHCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
T. castaneum6 ATlSSGSAAGVAQMSQHCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
s.kowalevskii20511 PIASpSGTvgLsgvMTCTICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
L.Polyphemus1 VSLGDQEGVQQQSAQQCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
L.Polyphemus2 IILHDQEGVvQ--QVVQCAICGDRATGKHYGAASCDGCKGFFRRSVRKNHLYTQRFNRNC
*:*****:*****:*:*:*:*

S.kowalevskii VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISRRTSYEDNLS-GSMSVNMLLNA
C.gigas VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISVRRTSYEDVNQT-NSLSVSTLLNA
F. arisanus VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEEEQTSNGGGLSVVSLQQA
T. castaneum10 IVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYENNQN-NGLSVGSLNA
T. castaneum3 IVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYENNQN-NGLSVGSLNA
T. castaneum4 IVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYENNQN-NGLSVGSLNA
T. castaneum5 IVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYENNQN-NGLSVGSLNA
T. castaneum6 IVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYENNQN-NGLSVGSLNA
s.kowalevskii20511 VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYETPGA-NGVSLSILLNA
L.Polyphemus1 VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYDEALHS-AGLSLGVLLNA
L.Polyphemus2 VVDKDRNQRYCRLKCFRAGMKKEAVQNERDRISCRRPSEYDETQS-TGLSLGALVNA
:*****:*****:*:*:*:*

S.kowalevskii EVLSRQM-----APPLSENTISSNKVAVLEDIKESMKQQLLVLVEWAKYIPSFCEL
C.gigas EILSRQM-----TSPAVGTDL-SHKLVA TandVIESMKQQLLILVEWAKYIPCFCEL
F. arisanus EMLSRQVVAALVEVQQLGSPHNETDLsnKQIANINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFCEL
T. castaneum10 EMLSRQVGAALeQM-GPTPVNDYDLsnKQLASINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFIDL
T. castaneum3 EMLSRQVGAALeQM-GPTPVNDYDLsnKQLASINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFIDL
T. castaneum4 EMLSRQVGAALeQM-GPTPVNDYDLsnKQLASINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFIDL
T. castaneum5 EMLSRQVGAALeQM-GPTPVNDYDLsnKQLASINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFIDL
T. castaneum6 EMLSRQVGAALeQM-GPTPVNDYDLsnKQLASINDVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFIDL
s.kowalevskii20511 ENFSRQ-----YSPVKGEVSMANKSVAGVMEVIESMKQQLLILVEWAKYIPAFQCL
L.Polyphemus1 EMYSRQQ-----LGpQNEIvLATKkVATIADVIESMKQQLLILVEWAKYIPSEIDL
L.Polyphemus2 EMYARQQ-----LgPHQNEISHTNKkVATIADVIESMKQQLLILVEWAKYIPSEIDL
* :** : * : * : : : :*****:*****:* :

S.kowalevskii PLDDQVALLRAHAGEHLVLGVARSLNYKDIILLGNDVIIPRHAP-----QLEI
C.gigas TIDDQVALLRAHAGEHLIMGVARRSLGVKDVLLGNDAIIPRNT-----EVEI
F. arisanus TLDDQVALLRAHAGEHLVLGVARSMHLNDVLLGNCCIITKSCPE-----GRNQDLDI
T. castaneum10 QLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMHLKDIILLGNCCIITKHSP-----DSRVSPDLDI
T. castaneum3 QLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMHLKDIILLGNCCIITKHSPVMMMLTDSRVSPDLDI
T. castaneum4 QLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMHLKDIILLGNCCIITKHSPVMMMLTDSRVSPDLDI
T. castaneum5 QLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMHLKDIILLGNCCIITKHSPVMMMLTDSRVSPDLDI
T. castaneum6 QLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMHLKDIILLGNCCIITKHSPVMMMLTDSRVSPDLDI
s.kowalevskii20511 TLDDQVALLRAHAGEHLVLGLAWRFNODDILLGNDYVIPRHSSG-----RRNPEAEM
L.Polyphemus1 PLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSMNVKDVLLGNFIIIPRHSS-----ETDI
L.Polyphemus2 PLDDQVALLRAHAGEHLVLGLARRSLCLKDVLLGNDFVIPRHSA-----ETEI
:*****:*****:*:*:*:*

```

ภาพที่ 3-27 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ้งกักแดนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่ฟ้ายี่คือโดเมน HOL1

```

S.kowalevskii  SRIAARILDELVKPLHDVQIDDEHFAQLKAI VFFDPDAKGLSDSMKIKSLRYQAQINLED
C.gigas       GRVASRILDELVQPMKDVQMDSEFAQLKAI VFFDPDAKGLTDPQKIKSFRYQVQVLED
F.arisanus    SRVGRVMDELVKPLNEVQIDDEHFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKHLRYQIQINLED
T.castaneum10 SRVGSRIMDELVKPMTEVQVDDTEFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKALRYQIQINLED
T.castaneum3  SRVGSRIMDELVKPMTEVQVDDTEFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKALRYQIQINLED
T.castaneum4  SRVGSRIMDELVKPMTEVQVDDTEFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKALRYQIQINLED
T.castaneum5  SRVGSRIMDELVKPMTEVQVDDTEFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKALRYQIQINLED
T.castaneum6  SRVGSRIMDELVKPMTEVQVDDTEFAQLKAI VFFDPNAKGLSEPARIKALRYQIQINLED
s.kowalevskii20511 SRIGARILDELVKPLRQVNLDDSEFAQLKAI VFFDPVIRGLNDINRVKALRYQVQLILED
L.Polyphemus1 SRIGCRIMDELVTTLREVNVDDTEFAQLKAI VFFDPYAKGLSDTMRKLLRCQVQTSLED
L.Polyphemus2 SRIGCRIMDELVTTLREVNVDDTEFAQLKAI VFFDPYAKGLSDVQRIKLLRYQVQTSLED
.*. * : : * * * * * : : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *

S.kowalevskii  YINDROYDSRGRFGEILLVLSLQSIITVHMIEQVQFAKLFVTKIDNLLQEMLLGGTSND
C.gigas       YINDROYDTRGRFGEILLMLPPLQSIITVOMIEQVQFAKLFGMARIDNLLQEMLLGGAAPE
F.arisanus    YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIISVOMIEQIQFVRLFGVAHIDSLLEMLLGGG---
T.castaneum10 YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIITVOMIEQIQFAKLFQVAHIDSLLEMLLGG---G
T.castaneum3  YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIITVOMIEQIQFAKLFQVAHIDSLLEMLLGG---G
T.castaneum4  YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIITVOMIEQIQFAKLFQVAHIDSLLEMLLGG---G
T.castaneum5  YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIITVOMIEQIQFAKLFQVAHIDSLLEMLLGG---G
T.castaneum6  YISDRQYDSRGRFGEILLTLPALQSIITVOMIEQIQFAKLFQVAHIDSLLEMLLGG---G
s.kowalevskii20511 YVNDQYVESRGRFGEILLTLPSLQSIITVOMIEQVQVVKLFQVAHIDTLLEMLLGGASSD
L.Polyphemus1 YINDROYDSRGRFGEILLTIPPLQSIITVOMIEQIQIAKILGMAKIDNLLQEMLLGGMSTSQ
L.Polyphemus2 YINDROYDSRGRFGEILLTLPLQSIITVOMIEQIQIAKILGMAKIDNLLQEMLLGDSFSP
*.* * * : : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *

S.kowalevskii  TQHSMAAAA-----ANPTTDHLTNGHPIMHQLQPSEASISAASHETASEFLKLOQ--
C.gigas       NGSTGTTPTTLQPTLMVNSFSDQISQSTDVLE-----SIATATIPSPHTCISPNN--
F.arisanus    -STDNLGTTPLP-----ISNA-PE-----SYVSSN--ESPSSPLT--PANTGP-----
T.castaneum10 ASIDTNAASMMS-----SANASVN-----NYQSTS--DSADSPVTSPTTTQC-----
T.castaneum3  ASIDTNAASMMS-----SANASVN-----NYQSTS--DSADSPVTSPTTTQC-----
T.castaneum4  ASIDTNAASMMS-----SANASVN-----NYQSTS--DSADSPVTSPTTTQC-----
T.castaneum5  ASIDTNAASMMS-----SANASVN-----NYQSTS--DSADSPVTSPTTTQC-----
T.castaneum6  ASIDTNAASMMS-----SANASVN-----NYQSTS--DSADSPVTSPTTTQC-----
s.kowalevskii20511 GNNGTGTNQ-----A-----SYGGGAGGIGTGPAPLPGGPGPCFPPI SHG
L.Polyphemus1 M-----LYPPGTGATGEQGGSMGPEPTTGLSLSPSAPS
L.Polyphemus2 ENPMMSTFAPYP----YTVRALNRLP----EFTASVPSSGEGQPPMGPEPPSGPL---LQS
*

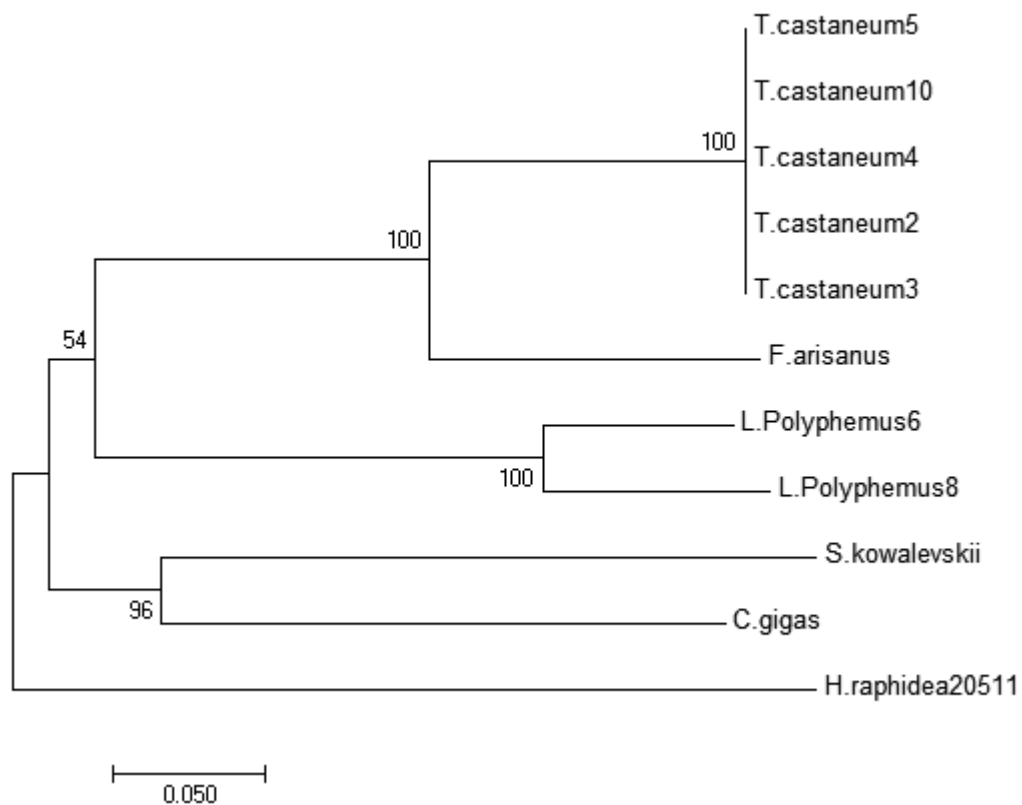
S.kowalevskii  --V---AAHGPK-REDLS-DMDYTRAAVVASSTHAFKREVI AASS----GIRYEDMTTVA
C.gigas       --SHSSPMGSPL-NLGLHHNMQAP--TPPMSSTDHLLTASAMV--S----TIDHILTAHQHN
F.arisanus    -----LSPQDHMLG-----ATSPVMILRDLT
T.castaneum10 -----NSPTDHLINGNISSPPS--TATSNVLI MRDIT
T.castaneum3  -----NSPTDHLINGNISSPPS--TATSNVLI MRDIT
T.castaneum4  -----NSPTDHLINGNISSPPS--TATSNVLI MRDIT
T.castaneum5  -----NSPTDHLINGNISSPPS--TATSNVLI MRDIT
T.castaneum6  -----NSPTDHLINGNISSPPS--TATSNVLI MRDIT
s.kowalevskii20511 --VNSGATGSSTHTTTSTD---SGVPLSAQSEMSLHGHVGVITSSSSSTSLVTSRDID
L.Polyphemus1 TSLHHSVLQNP IAHLTNSH-----NQSQSNHLTNGHPETPIP-----
L.Polyphemus2 TSLHHSVLQHPIAHVNNGH-----SDHLSNGHPDTPIP-----

S.kowalevskii  VTAASPPTITTSATQTRVTAS-----
C.gigas       DSPISSPPL--SSESYTTKVNGSSYSFKQEVS-----
F.arisanus    P-----LPQDDPSTVGS--FRLFKQEPSMETETPF-
T.castaneum10 P-----IDE-----NS--YMAFKQEP IQEVEQHTF
T.castaneum3  P-----IDE-----NS--YMAFKQEP IQEVEQHTF
T.castaneum4  P-----IDE-----NS--YMAFKQEP IQEVEQHTF
T.castaneum5  P-----IDE-----NS--YMAFKQEP IQEVEQHTF
T.castaneum6  P-----IDE-----NS--YMAFKQEP IQEVEQHTF
s.kowalevskii20511 L-----TTEDQYK---LLAPPFKAELLDQN--YDA
L.Polyphemus1 -----SPSDTYKVHQPLGSPQPFKREMLETD--PAY
L.Polyphemus2 -----SPPDTYKV-QSLGSQLKREMI DSD--PAY

```

ภาพที่ 3-27 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ้งก่าเตนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่ฟ้าคือโดเมน HOLI

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ่งตึกแทนทางจุดโดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับหนอน *Saccoglossus kowalevskii* และหอยนางรม *Crassostrea gigas* มากที่สุดที่ 96 % ทำให้ทราบว่ายีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในกิ่งตึกแทนทางจุดมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มมอด แมงดา แอตแลนติก และแมลงวัน ดังภาพที่ 3-28



**ภาพที่ 3-28** การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในกิ่งตึกแทนทางจุดโดยใช้ *S. kowalevskii* (XP\_002731047.1), *T. castaneum10* (XP\_008196276.1), *T. castaneum3* (XP\_008196269.1), *T. castaneum4* (EFA07427.1.1), *T. castaneum5* (XP\_008196271.1), *L. Polyphemus1* (XP\_013779786.1), *F. arisanus* (XP\_011302608.1), *L. Polyphemus2* (XP\_013791686.1), *C. gigas* (XP\_011451246.1) และ *T. castaneum6* (XP\_008196272.1).

### 3.3.4 ยีน putative nuclear hormone receptor HR38

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ้งกักแทนหางจุดพบว่ามียีนลำดับนิวคลีโอไทด์ 2,351 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 783 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 2,256 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 752 ตัว โดยยีน putative nuclear hormone receptor HR38 พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $4.57e-39$  และโดเมน HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $3.04e-26$  ดังตารางที่ 3-29 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-29 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนนี้กับยีนอื่นจากกิ้งกักแทนหางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีความคล้ายกับของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ปลาย *Zootermopsis nevadensis* ยุง *Anopheles gambiae* str. PEST โลน *Pediculus humanus corporis* ยุงลาย *Aedes aegypti* มอดแป้ง *Tribolium castaneum* แมลงวันบ้าน *Musca domestica* ตัวงสนภูเขา *Dendroctonus ponderosae* มดกระโดดอินเดีย *Harpegnathos saltator* และตัวต่อไม้กาฝาก *Orussus abietinus* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-30

**ตารางที่ 3-29** โดเมนที่พบบนยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ้งกักแทนหางจุดที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
ZnF_C4	411	482	$4.57e-39$
HOLI	559	719	$3.04e-26$

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโน จากภาพที่ 4-8 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-30

**ตารางที่ 3-30** การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่<sup>ซึ่งได้</sup>ได้จากข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 ใน<sup>ซึ่ง</sup>กิ้งก่าแค่นทางจุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Identities	Accession
Putative nuclear hormone receptor HR38 [ <i>Zootermopsis nevadensis</i> ]	505	505	44%	4e-167	81%	KDR09534.1
AGAP008334-PA [ <i>Anopheles gambiae str. PEST</i> ]	512	512	44%	1e-166	81%	XP_317123.4
Retinoid X receptor , putative [ <i>Pediculus humanus corporis</i> ]	505	505	43%	7e-166	81%	XP_002428935.1
Nuclear hormone receptor [ <i>Aedes aegypti</i> ]	500	500	44%	1e-164	79%	AAF23095.1
PREDICTED: probable nuclear hormone receptor HR38 [ <i>Tribolium castaneum</i> ]	502	502	44%	2e-164	80%	XP_008194320.1
PREDICTED: probable nuclear hormone receptor HR38 [ <i>Musca domestica</i> ]	509	509	44%	4e-163	81%	XP_011292206.1
Hypothetical protein D910_06538 [ <i>Dendroctonus ponderosae</i> ]	493	493	44%	5e-163	79%	ERL89163.1
AAEL013270-PA [ <i>Aedes aegypti</i> ]	504	504	44%	8e-163	79%	XP_001666343.1.1
Probable nuclear hormone receptor HR38 [ <i>Harpegnathos saltator</i> ]	489	489	44%	3e-162	78%	EFN81833.1
PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: nuclear receptor subfamily a group A member [ <i>Orussus abietinus</i> ]	515	515	44%	5e-161	81%	XP_012285623.1

```

-48:          GTGGTGGCTAGCTTTCTCTGCGGCCCCAGCACCACCACCAACTCG :0
1:  ATCGGGGACCTGTACGAGACCTATCTGGACTTGGAGCAGCTCACCCGCGTAGGGTTCCCG :60
   M R D L Y E T Y L D L E Q L T D V G F P
61:  ACCCTGCCTCTGGTAGATAGTTTCCCCCATCGTGCCACCTGCCCTTCTCGTGGAAGAC :120
   T L P L V D S F P P S C H L P F F A E D
121: CACGTGACGGCTTAGACGTGAACACCGTCTGCCCCCAGGGCACCACGGGGAAAGTCT :180
   H V T A L D V N T V V P P R A P P G K S
181: TCCCCTTCCCTGTATCTCCTGAAGCCTTCTAACCATCGACTCCAACACAGACTGGAC :240
   S P F P V S P E A F L T I D S N T G L D
241: GTGCCCCAGGAAAGTCCCTCGAGCCTGACGAATCCCTCCCTCCTCCCCAACCCACACC :300
   V P Q E S P L E P D E S S L S P N H H T
301: ACCTCCCACCAGCCCATCACCATCACACCTCCAACATGTGGTCTACAGCCACAGCAG :360
   T S H H A H H H H T S N M L V L Q P Q Q
361: ACCCTGTGCACTCCAGTGTGGCCGAGCGCTCTCCACCTTTACAACCTCACTTCGAGC :420
   T L L H S S V A E A L S T S Y N L T S S
421: CTCTGCGATGAGTCCCTGGGCGAGCGCTGGCGAGGAGTTCAAACCTGAGCACTTCGTTT :480
   L C D D E S L G S A S G E E F K L S T S F
481: ACGCTCCGGCTCTACAAGCTACGGCGAGAGCGGCGCCGAAAGCTCCTTCAGCGAGGTG :540
   T P P A S T S Y G E S G A E G S F S D V
540: TTCCACGGCGACTACCTCTGCAGACCAGCCCTCGAGGATCTCAAGCCCGTCATCACC :600
   F H A D Y L L Q T T P L E D L K P V I T
601: CAGGCTCCAGCAGCGCCCGGGGTCAACCCGAGCAGGTTAATTAATCTGCGCAGC :660
   Q A S S T P P P G S P P T Q V N I T A T
661: GCCTCCGTTGCCTCGACTCTGCCAGCTTCCAGGAGACCTACTCGCGGAGGTACCGGCCC :720
   A S V A S T L P S F Q E T Y S P R Y R P
721: CTGGCGCTGATGTTTACCTTCAAGGCCGATGAGCAAGGCCAGCAGCGCTGCGGTT :780
   L G A D V F T F K A D E P R P S T A A V
781: GAGTGTACCCTCAGCCGCCCCAGCACACCAGACCTTACCCCGCAGCCGTTGCGCCC :840
   E C Y P Q P P P A H Q T F T P Q P V A P
841: TCAGCCGCTGCTCCTCCTCCCTCCGCTTCGGCACCCACAGCCACGGAGGCCCATACT :900
   S A A A P P P P S A P T A T E A H T
901: TCGTACGAGTCTTCCCCCGCAGCCCAACCCGACAGATGTTCTCCCGGTGACT :960
   S Y E S F P P Q P Q P T A Q M F S R V T
961: AGCTACTCCAGCCGGTCCCGTCCCCATACCTACACAGCACCTTCCAAGCCTATGGA :1020
   S Y S Q P V P V T H T Y T A P S K T Y G
1021: AGCGACTTCTACCAGACCCCGTACGAAGGCTCCAGCCCTCCACCAAGGCCGTACATG :1080
   S D F Y Q T P Y E G L Q P L H Q E P Y M
1081: CGGCCCTCCACCTCCGCGTGCAGTACACCGATATGGTCCGCGCCCTCCATGCCCTTCGTG :1140
   R P S T S A S H Y T D M V P P S M P F V
1141: CCCCCAAGGCGGAGCCATGGACCTGCATCATGAGGATCCATTCCCCGGCCCGGGTT :1200
   P R K A E P M D P A L M R I H S P A R V
1201: TCCCCGTGGAACAGAACCTCAGTCGCGCTCGCAGCTGTGTGCCGTTTCCGGAGACACC :1260
   S P V E Q K P Q S P S Q L C A V C G D T
1261: CAGCGGTGCCAGCACTACGGCGTGGCACCTTGGCAGGGCTGCAAGGGCTTCTTCAAAGG :1320
   A A C Q H Y G V R T C E G C K G F F K R
1321: ACCGTGCAGAAGAAGCCAAAGTACGTCTGCCTGGCCGACAAAGAACTGCCCGTGGACAAG :1380
   T V Q K N A K Y V C L A D K N C P V D K
1381: AGGCGGAGGAACCGCTGCCAGTCTTCCGCGCTTCCAGAAGTGTCTGGCCGTCCGGATGGTC :1440
   R R R N R C Q F C R F Q K C L A V G M V
1441: AAGGAGTTCGTACGCACGGACAACCTCAAGGGTGCCTGGCCGACTTCCAGCAAACCC :1500
   K E V V R T D N L K G R R G R L P S K P
1501: AAGAGCCCCAGGAGTCCGCGCCCTCCCCGCGGTGTCCTCATCAGTCCCTGGTCCGC :1560
   K S P Q E S P P S P P V S L I T S L V R
1561: GCTCACGTGGACACCACGGCAGGTGTCGAACCTTGACTACTCGCAGTACAAGGAACCT :1620
   A H V D T T P D V S N L D Y S Q Y K E P
1621: ACGGAGGCGCCGAGACCCCAACGACAGAAGCCGAGAAGGTGCAGCAGTTTACCGCTC :1680
   S G A E T P T T E A E K V Q Q F Y A L
1681: CTCGTATCCAGTATAGAGGTGATCCGCAACTTCGCCGACAAGATCTCCGGCTACCAGGAC :1740
   L V S S I E V I R N F A D K I S G Y Q D
1741: CTGGCCAAAGGAGGACCAAGAACTCCTTCTCCACTCGCGCGTTCGCTCGAACTCTTCGTACT :1800
   L A K E D Q E L L F H S A S L E L F V L
1801: AGACTCGCCTACAGATTATGAACAGCCCGGATGACGTCAAAGTCTGCTCTTCGACAATGGA :1860
   R L A Y R F M N S P D D V K V V F D N G
1861: TCGCTTCTTACCAGCGCAATGCGAGAGATCCTTCCGAGAGTGGCTCCAGGGTATCCTC :1920
   C V L H R A Q C E R S F G E W L Q G I L
1921: GACTTCGCCGCTCACITAAAGCTATGGAGCTCGATATCTCCGCTTCCGCTGCCTTTCT :1980
   D F A A S L K A M E L D I S A F A C L S
1981: GCCCTCACATCATTACAGAACGCCACGGCCTCAAGGACACCAAGAAGTTCGAACAGTTC :2040
   A L T I I T E R H G L K D T K K V E Q L
2041: CAGATGAAGATTATCAGTTCCCTGAGAGACCACGTGACGTACAATTCAGACGCCGAGAA :2100
   Q M K I I S S L R D H V T Y N S D A Q K
2101: AAACCTCACTACTTCTCCCGGATTCGGGCAAGCTTCCAGAGCTGAGATCGTTGTCA :2160
   K P H Y F S R I L G K L P E L R S L S V
2160: CAGGGTCTGCAACGCATCTTCTACCTGAAGTTCGAGGACCTGGTCCCCGGCCCGCAGCTT :2220
   Q G L Q R I F Y L K L E D L V P A P Q L
2221: ATAGAGAATATGTTGTGTCAGCATTCCCTTCTGAagagaagggcctggtcgaggtga :2280
   I E N M F V S S I P F
2281: gggcgcggggctgacatcgagg :2303

```

ภาพที่ 3-29 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในของกิ้งก่าเตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon และหลัง stop codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOL1

```

H.raphidea56829      MRDLYE-----TYLDLEQ-----LTDVGFPP-----
P.humanuscorporis   -----
Z.nevadensis        -----
T.castaneum          -----
D.ponderosae        -----
M.domestica          -----
A.gambiae            -----
A.aegypti4           -----
A.aegypti8           -----
H.saltator           -----
O.abietinus          MRTVEDVGPSTAPAVGVPDLGRNRDHGASRGGSATDSATGFPHAPYHPATLAADSNNN

H.raphidea56829      -----TLPLVDSFPP-----
P.humanuscorporis   -----
Z.nevadensis        -----
T.castaneum          -----
D.ponderosae        -----
M.domestica          -----MLLLQPNNTFGTLSPFDNFSQSGNQOQHQQHQQOQQOQQPQQ
A.gambiae            -----
A.aegypti4           -----
A.aegypti8           -----MWYNANSFSSVSSFDYLLSQQNHPEQSYHQLGAFGP-----
H.saltator           -----
O.abietinus          HDHHRNFESTEPGDVRRHEHWSKWQLHSP-----SAESEHANGTLNR-----

H.raphidea56829      -----SCHLPFFAEDHVTLDVNTVVP
P.humanuscorporis   -----
Z.nevadensis        -----
T.castaneum          -----
D.ponderosae        -----
M.domestica          QLHHQSQQSHHHPHHHHHHHHHQHHSTTTTLAGNTTPHLLSVATEDHLIGNLDTTTS
A.gambiae            -----
A.aegypti4           -----
A.aegypti8           -----SQQLPQQQHQESQHQQLSPGLLPTTSQ-----
H.saltator           -----
O.abietinus          -----AISRTEIDQPHHQHQHQSH-----

H.raphidea56829      PRAPPGKSSPFPVSPEAFLTIDSNTGLDVPQES--PLEPDESSLSPNHH---T-TSHHAH
P.humanuscorporis   -----
Z.nevadensis        -----MRSGPPTLRQHFRQQHFNAPQQTHDTSN
T.castaneum          -----
D.ponderosae        -----EHSELIDHTFNQLSDLFFPTDSNQSLLSPTLDSNPS--READSSTQHN----HHHSH
M.domestica          -----LDKVFVELFSAAPHTPAESITTES-----YLADQT-----QHSNS-
A.gambiae            -----
A.aegypti4           -----
A.aegypti8           -----HQLDKVFVELFGASQSQSTEEAISSES-----YL-DQT-----QHSNS-
H.saltator           -----
O.abietinus          -----QQR-----QRPAS-

```

**ภาพที่ 3-30** การแสดงความคล้ายคลึงของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ่งตึกแทนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน putative nuclear hormone receptor HR38 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และกรอบสี่ฟ้าคือโดเมน HOLI



```

H.raphidea56829      HHHTSNMLVLQPQQTLLHSSVAEALSTSYNLTSSLCDESLGSASGEEFKLSTSFPPAST
P.humanuscorporeis  -----MPRGGF--GNAMHVIWV--VAPFGS
Z.nevadensis
T.castaneum         NNSPAYNFHLQNKCTVLVQGEVVS---SAPLVAASAQPSAPTSP--QSSMLLQT--QTPFGS
D.ponderosae
M.domestica         HHHHSQLQDLHSSCETLVGSSSED-----ITSSLENLTKLTC--LREKRLSSI--PE----
A.gambiae          --SSDTLVGLEDNPFSTFGGSSDS-----IPSALLKA----S-YKEE----L-PSPFSA
A.aegypti4
A.aegypti8         --SSDTLVGLEENPFSTFGGNSDS-----IPTAILKA----T-YKEESLTDL--QDPFSA
H.saltator
O.abietinus        --ISDSPLPCNNQATTTATAFT-----VASSM-----LLLQT--QSPFGC

H.raphidea56829      SYGESGAEGSFSDVFHADYLLQTTPLEDLKPVITQASS-----
P.humanuscorporeis  STFAELLSAPYSEDVG-----GETLDPFPE-----
Z.nevadensis
T.castaneum         SSFADLLSAPFSDDPSSVL-----PPEDLDPFPD-----
D.ponderosae
M.domestica         --QHSLRTTSNSEADHSSLCFDRSTPQEIIGLLSLRSSSDPAIALHALQERQQQQHQ----
A.gambiae          GPSTR---APTTEPPDLDLLEFSSSTEELGLLTLRSSSDPVLASSARLPQAIVHAQQGQL
A.aegypti4
A.aegypti8         GPSRA---Q--TTEPEQDLLLLETSSTEELGLLTLRSSSDPVLASSARQQPQPPHQLLQH
H.saltator
O.abietinus        STLADLLTVPYSEPTDAGS-----LPDELDPFPEIQGNPQGAISAGI--ESVHSQQ---

H.raphidea56829      ---TPPPGSPPTQVNI TATASVASTLPSFQETYSRPRPLGA-----DVFTFKADE
P.humanuscorporeis  -----VVFHSQPLSFAPLPSFQEIYSPRFPTRQ-----TKSP
Z.nevadensis
T.castaneum         -----VALQSQPASPAPLPSFQETYSVRYNAPF-----KMDE
D.ponderosae
M.domestica         -TSTAGGSVRGVGDPLLSPLGGPLSLPSFEETYSLKYGTTPTGGSASTVSTSDLQIKMDE
A.gambiae          RPNAPATAGPSGVEVAAAAAASLLPSFQETYPICY---N-----QLASYGLKMDD
A.aegypti4
A.aegypti8         PAQRP--GPRPISSTEIPSGSAANLPSFQETYPICY---N-----QLASFGLKMDE
H.saltator
O.abietinus        ---PPHQHPPLPGDVQTDLSPTPLPSFQETYTVQRYSRQ-----DIVGLGLKMDE

H.raphidea56829      PRPSTAAVECYPPPPAHQTF-----
P.humanuscorporeis  -----ELNNIGIKMDEYVVY-----HHHHPSPAMP-----
Z.nevadensis
T.castaneum         -----ECYNVP---TPYNHN-----HHH--HHPAVV-----
D.ponderosae
M.domestica         -----DCGFNV-----APYH-----
A.gambiae          -----DCFPLNTSSGEGIGGP---ALNQAQTHHHHH---QHQQQHLHNNQQQHHHSQ
A.aegypti4
A.aegypti8         -----DCFKMATSPHHHQ-----AV-----TAAAYAHHG-
H.saltator
O.abietinus        -----DCFKIAASPHHQ-----V-----GYGHHG-
-----DCFKIAASPHHQ-----V-----GYGHHG-
-----DSYDSVYTCGALYPTEFSPALVPAPPPGAAPPATPPATESATPRAGSAAPGS

H.raphidea56829      -----TPQPVAPS-----
P.humanuscorporeis  -----TTPIQSPYDFHSQHF-----
Z.nevadensis
T.castaneum         -----PTPAPSPYDFQPS--AP-----
D.ponderosae
M.domestica         -----HVSAPHHYDYQQL--QYT-----
A.gambiae          -----PVPTSHHYEYQQLHQYP-----
A.aegypti4
A.aegypti8         LGNNHNSLLGNQQQQQ-----QQQSATQQQPHLPQQTHHQHTQQQQNSNN---FN
H.saltator
O.abietinus        --S---VYGHG-----HQHHHHQHHAHTAGGASGGITQYN
--Y-----GHH-----AAAVH--QPHYEFFPQHTTAPPTQYS
--Y-----GHH-----AAAVH--QPHYEFFPQHTTAPPTQYS
AGP---ATSPAASAAADPPPAAPCPPPPQSPPPXQQQHRRDYFSPE--SGPVTVA

```

ภาพที่ 3-30 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ่งตักแทนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน putative nuclear hormone receptor HR38 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา เทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และกรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน HOLI

```

H.raphidea56829 -----AAAPPP--PPPSAPTATEAHTSYE-----SFPPQPQPTAQMFSRVTS
P.humanuscorporeis -----SPYYQQ-----QPHHPNQGYE-----
Z.nevadensis -----QPAPYSPY-----FPQQ-SPGFEP-----
T.castaneum -----ASSPYYP-----PQTC-SPGFDT-----
D.ponderosae -----VASPYYP-----PPTC-SPSFD-----
M.domestica YHGHE--NATTP-----ASSTSSVSSSPYEFTNGTETSGSFNTSTSGE-NFY-----
A.gambiae -----NP-----AGP--PGSATSSCKYDLSIN-----NEFQELLQQQ-TF---VPL
A.aegypti4 -----NP-----SP-----GGSFYPTPAYEQHAA-----VSQPRNTTQT-NT---STI
A.aegypti8 -----NP-----SP-----GGSFYPTPAYEQHAA-----VSQPRNTTQT-NT---STI
H.saltator -----M-----MV-----
O.abietinus LITPQPAGAVTPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPPAPAM----ASVPASQQGS-PYSTLSMV
    
```

```

H.raphidea56829 YSQP-----VPV-THTYTPASKTYGSDFYQTPYEGLO-----PLH--
P.humanuscorporeis -----SSGGPQDSYSLPHFP-----TSEL---HINTTLNLRQRASLPLQRS
Z.nevadensis -----TP-LPQDTYSLPHF--PSTSEL---HVTTLSLPRQRASLPLQRS
T.castaneum -----LISQ--ETYSLPAQTA-TSEL---HVSTALSQRQRASLPLQRS
D.ponderosae -----LMAQSGESYSLPTYQVPSATEL---HVSTALSQRQRASLPLQRS
M.domestica -----HQYHLNTQPNNYHSSTAERYSLPTFTMSDLEAATAVASAALAPLRRASLPLVNR
A.gambiae FRSQGYGGQVG-----AQDTYSLPPFPTVA-ELH-----VTTTCHRRSLPIQRS
A.aegypti4 VSFPQNYGAVT-----PQDSYSLPPFPTIA-ELH-----VSTTCYRRASLPLQRS
A.aegypti8 VSFPQNYGAVT-----PQDSYSLPPFPTIA-ELH-----VSTTCYRRASLPLQRS
H.saltator YGAPTAIANVAAPV-----AAPTDLCPNV-DTVV-----VGTARSRRASLPLQRS
O.abietinus YGPPSIAGINVPVSNVLSPPQADHHQFVPGIAPSNA-----ASNARSRRASLPLQRS
    
```

```

H.raphidea56829 -----QEPYMRPSTSASHYTD-----VPPSMPFV---PRK-----
P.humanuscorporeis ESTNSS--DSPKLRMGM-----GPPPSASSSASSSPGCGVPETVA-----
Z.nevadensis ESTSSS--ESP KLR LRPISG-----GFAPSASSSASSSPGCGGLSDVVSPAFT-
T.castaneum ESTSSS--ESP KLR MP-----G--PSASSSASSSPG-----
D.ponderosae ESTSSS--ESP KLR MV-----GTGPSASSSASSSPG-----
M.domestica ESPLS--NHSPKLPKLVIGSTNTTLHLKHQHATLASAPSSASNSPSVRQSSSTPSLHQQQ
A.gambiae ESTSSS--ESP KPPRIAIYNKYSAL-----PSASSSASSSPGYMNNNPNNTINNNE
A.aegypti4 ESTSSS--ESP KPPRVGIY-KYSAL-----PSASSSASSSPGYINNNNPNNTINNNE
A.aegypti8 ESTSSS--ESP KPPRVGIY-KYSAL-----PSASSSASSSPGYINNNNPNNTINNNE
H.saltator ESASSGSTESP KPRGSGGTAS-----SVS-----
O.abietinus ESTS--SNESP KPRGGSSSS-----VG-----
    
```

```

H.raphidea56829 -AEPMDPAL---MRIHSPARVSPVEQKQSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
P.humanuscorporeis -----PSLLRPAPQSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
Z.nevadensis -VPPPTPAASTAPSTGAVPRTSGGPAQSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
T.castaneum -----IA---EPPSKGTPPSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
D.ponderosae -----PGDQPPQTSKGPTEPSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
M.domestica QLHHH---QHQQMNSASDMLNGRVITPPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
A.gambiae VAAAAAAAAAAAAATAGGIVGAGAPTEVSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
A.aegypti4 VAAAAAAAAAVAAAVAGSATPAPRGPTQSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
A.aegypti8 VAAAAAAAAAVAAAVAGSATPAPRGPTQSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
H.saltator -----SPSPGSGTSGGERAPPSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
O.abietinus -----SP-----CSSNGERAPPSPSQLCAVCGDTAACQHYGVRTCEGCKGFFK
    
```

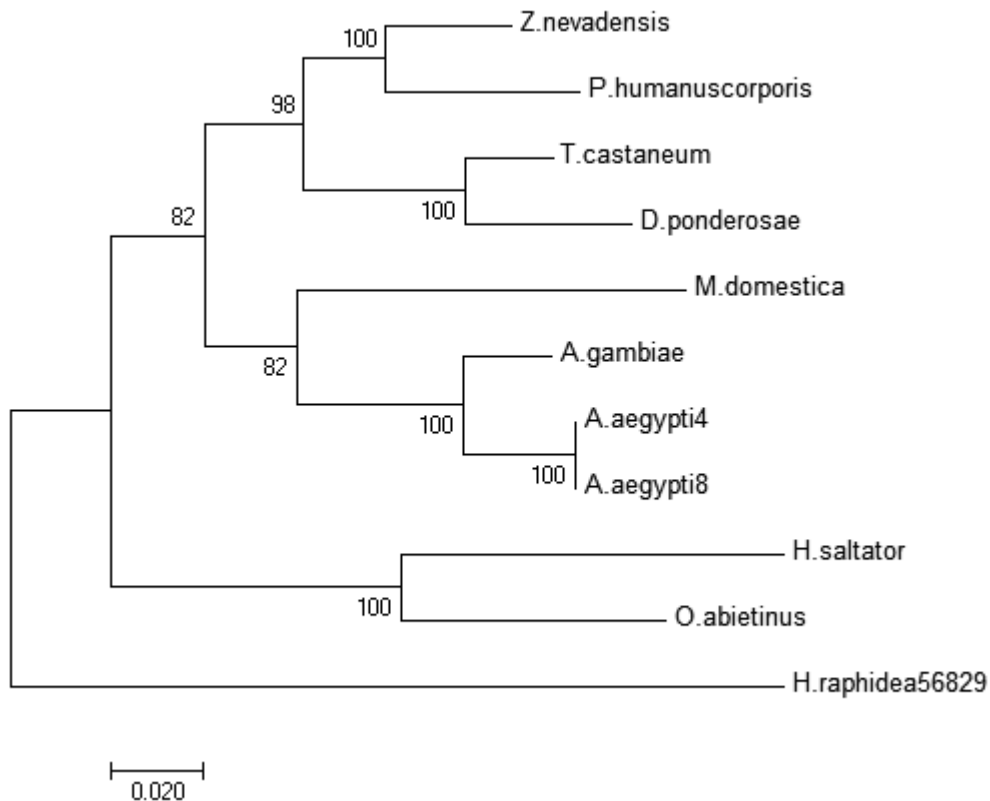
```

H.raphidea56829 RTVQKNAKYVCLADKNCPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
P.humanuscorporeis RTVQKGSKYVCLADKSCPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
Z.nevadensis RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
T.castaneum RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
D.ponderosae RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
M.domestica RTVQKGSKYVCLADKNCPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
A.gambiae RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
A.aegypti4 RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
A.aegypti8 RTVQKGSKYVCLADKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLAVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
H.saltator RTVQKGSKYVCLAEKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
O.abietinus RTVQKGSKYVCLAEKACPVDKRRRNRQCFRFQKCLVGMVKEVVRTDSLKGRGRRLPSK
    
```

ภาพที่ 3-30 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ่งตักแทนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน putative nuclear hormone receptor HR38 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันใน ยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา เทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และกรอบสี่ฟ้าคือโดเมน HOLI



เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ่งตึกแทนทางจุด โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับมดกระโดดอินเดีย *Harpegnathos saltator* ตัวต่อไม้กาฝาก *Orussus abietinus* มากที่สุดที่ 100% ทำให้ทราบว่ายีน putative nuclear hormone receptor HR38 ในกิ่งตึกแทนทางจุดมีความคล้ายคลึงแมลงชนิดอื่นๆ ดังภาพที่ 3-31



ภาพที่ 3-31 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของของยีน putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในกิ่งตึกแทนทางจุด ที่มีการระบุในท้องสมุด ยีน โดยใช้ *Z. nevadensis* (KDR09534.1), *A. gambiae* str. PEST (XP\_317123.4), *P. humanuscorporis* (XP\_002428935.1), *A. aegypti* (AAF23095.1), *T. castaneum* (XP\_008194320.1), *M. domestica* (XP\_011292206.1), *D. ponderosae* (ERL89163.1), *A. aegypti* (XP\_001663431.1), *H. saltator* (EFN81833.1) และ *O. abietinus* (XP\_012285623.1)

### 3.3.5 ยีน retinoid-X receptor 2

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในของกั้งตักแดนทางจุดพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,169 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 389 ตัว โดยยีน retinoid-X receptor 2 พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.19e-37$  และ HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $2.07e-28$  ดังตารางที่ 3-31 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-32 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของขึ้นดีเอ็นเอจากกั้งตักแดนทางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีคล้ายกับของยีน retinoid-X receptor 2 ในปูม้า *Portunus trituberculatus* กุ้งแม่น้ำ *Macrobrachium nipponense* ปู *Callinectes sapidus* กุ้งขาว *Fopius arisanus* ปูขาว *Scylla paramamosain* กุ้งแชบ๊วย *Fenneropenaeus chinensis* ปูขน *Eriocheir sinensis* และกุ้งมังกร *Homarus americanus* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-32

ตารางที่ 3-31 โดเมนที่พบบนยีน retinoid-X receptor 2 ในกั้งตักแดนทางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
low complexity	14	34	N/A
low complexity	50	65	N/A
ZnF_C4	78	149	$1.19e-37$
HOLI	208	349	$2.07e-28$

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนจากภาพที่ 3-32 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-33

ตารางที่ 3-32 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในท้องสมุทจีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน retinoid-X receptor 2 ในกุ้งตกแตนหางจุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Indentities	Accession
retinoid-X receptor 2 [ <i>Portunus trituberculatus</i> ]	458	458	90%	4e-155	72%	AHU81363.1
retinoid X receptor [ <i>Macrobrachium nipponense</i> ]	452	452	90%	3e-153	71%	AHA33388.1
retinoid-X receptor [ <i>Callinectes sapidus</i> ]	450	450	89%	7e-153	72%	AET06182.1
retinoid X receptor [ <i>Litopenaeus vannamei</i> ]	451	451	90%	1e-152	70%	AGG55291.1
retinoid X receptor [ <i>Macrobrachium nipponense</i> ]	451	451	90%	1e-152	71%	AHA33387.1
retinoid X receptor 3 [ <i>Scylla paramamosain</i> ]	449	449	89%	1e-152	72%	ALM98948.1
retinoid X receptor 2 [ <i>Fenneropenaeus chinensis</i> ]	448	448	90%	2e-151	70%	ACN78602.1
retinoid X receptor [ <i>Eriocheir sinensis</i> ]	466	466	89%	2e-151	72%	AHF65152.1
retinoid X receptor [ <i>Homarus americanus</i> ]	448	448	90%	2e-151	70%	AGI15961.1
retinoid-X receptor -2 [ <i>Callinectes sapidus</i> ]	444	444	89%	2e-150	71%	AGB34183.1

```

-122: ca :-121
-120: ataatcggttcgacctcacacaccccctcttcacagaaattgcaaattaccgtgcatcaag :-61
  1: tgaattccagcgtaagaaccagactgtcttgatagtaataaggtgttgttgatgctggc :0
  1: ATGTCTGAATTCAGTGGGCCGCGCCAGTCCGCACTAAATATGACCCAGATACCCCTTCTGTCT :60
  M S N S V G R Q S P L N M T P D T L L S
  61: CCCACTTCCCAACCACCTCAATTTCAACACAACCAATGGCGAGCCCGCATCA :120
  P T S S T T T S S N F N T T N G E P A S
  121: CCAAGCATCCCTCCATTCACTATTGGGTCAAGTGAACCAATTACCTAAGTACGAGTAGC :180
  P S I P P F T I G S S G T N Y L S T S S
  181: ACCACATCTCCTACTCAACAGTTCCCCCTAACCACCCGCTCTCAGGATCAAAACATTTA :240
  T T S P T Q Q F P P N H P L S G S K H L
  240: TGTTCATTTGTGGTGATCGTGCTTCTGGCAAGCACTATGGCGTCTACAGCTGTGAGGGT :300
  C S I C G D R A S G K H Y G V Y S C E G
  301: TGAAGGGATTCTTCAAACGCCTGTGCGAAAGGATCTCTCCTATGCTTGCCGAGAAGAC :360
  C K G F F K R T V R K D L S Y A C R E D
  361: CGCAGCTGCACTATTGACAAAAGACAGAGAAATCGATGCCAGTACTGTCTGTTACAAAAG :420
  R S C T I D K R Q R N R C Q Y C R Y Q K
  421: TGTTTGTCCAAGGGGATGAAGAGGGAA GCTGTCCAGGAGGAGCGGCAGCGGACCAAGGGG :480
  C L S K G M K R E A V Q E R Q R T K G
  481: GACAAAAGCGAAATGGAGTTGGATACAGCCTCCAGTGTCTGCTGACATGCCAGTTGCA :540
  D K S E M E L D T A S S A A A D M P V A
  541: CAGATCAAGGAAGCAGAGATGAGAGTCGAGCCCACTGATGACCTCATCATGGAACCTGGG :600
  Q I K E A E M R V E P T D D L I M E P G
  601: GATGCAGTAAATAACATCTGCCTGTCAGCAGGAAGACAGCTTATTCTGCTTGTGGATTGG :660
  D A V N N I C R A A G R Q L I L L V D W
  661: GCTAAACACATCCACATTTTCATTGAACACTCCCATGAGACCAAGTGGTGCTGCTTAGA :720
  A K H I P H F I E L P I E D Q V V L L R
  721: GCTGGGTGGAATGAACACTAATTGCAGCATTTCATCCATCGTAGCATAGAAGTTGAGTCT :780
  A G W N E L L I A A F S H R S I E V E S
  781: GGCATAGTATTAGCAACTGGTGTGTGATTGAGCGAAATGAAGCCCATCAGGCAGGTGTG :840
  G I V L A T G V V I E R N E A H Q A G V
  841: GAAGGAATCTATGACCGTGTGTGTCAGAGTTGGTAGCTAAGATGAGGGAGATGAAGATG :900
  E G I Y D R V L S E L V A K M R E M K M
  901: GACAAAACAGAACTTGGATGCTTACGCTCCATTGTCTTATTTAATCCAGATGCTAAGGAT :960
  D K T E L G C L R S I V L F N P D A K D
  961: TTGCGTAATGTAAGTGAAGTAGAGTCGTTACGTGAGAAGGTGTATGCTGCATTGGAGGAA :1020
  L R N V S E V E S L R E K V Y A A L E E
  1021: TATACACGCAATACATATCCAGATGAG :1047
  Y T R N T Y P D E

```

ภาพที่ 3-32 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ใน กิ่งตึกแทนทางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4 และสีฟ้าคือโดเมน HOL1

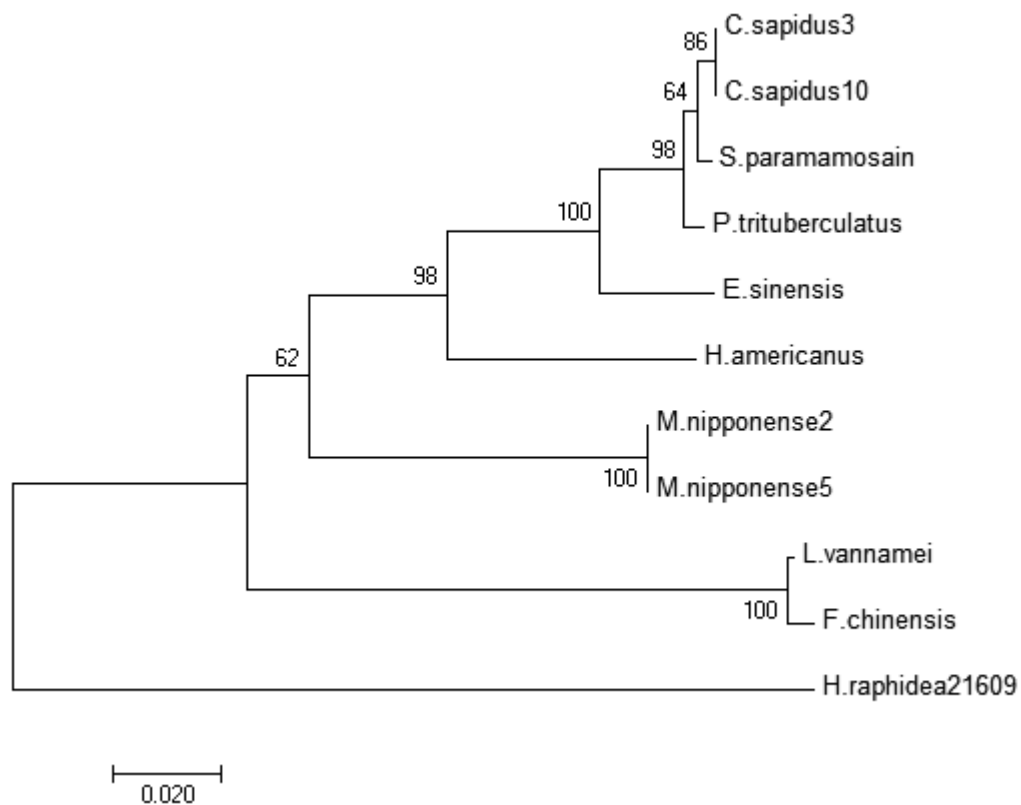




H.raphidea21609	AADMPVAQIKEAEMRVEPTDDLIMEPG-DAVNNICRAAGRQLILLVDWAKHIPHFIELEPI
M.nipponense2	IPDMPISSIHEAETIVDPTDEQPVDQG-DAVTNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
M.nipponense5	IPDMPISSIHEAETIVDPTDEQPVDQG-DAVTNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
L.vannamei	VNDMPISQIRDAELNSDPTDDLLFEEG-DAVSHICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
F.chinensis	VNDMPISQIRDAELNSDPTDDLLFEEG-DAVSHICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
H.americanus	ISDMPITSIREAELSVDEHTDEQPLDQG-DAVTNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
E.sinensis	ISDMPIASIREAELTVEPIDEQPLDQG-DVVSNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
C.sapidus3	ISDMPIASIREAELSVDFIDEQPLDQG-DVVSNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
C.sapidus10	ISDMPIASIREAELSVDFIDEQPLDQG-DVVSNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
P.trituberculatus	ISDMPIASIREAELSVDFIDEQPLDQG-DVVSNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
S.paramamosain	ISDMPIASIREAELSVDFIDEQPLDQG-DVVSNICQAADRHLVQLVEWAKHIPHFTDLFPV
	***::.*::** : * : . : * * . . . ** : ** * : * : ** : ***** : * :
H.raphidea21609	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSIEVESGIVLATGVVIERNEAHQAGVEGIYDRVLSSELV
M.nipponense2	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELI
M.nipponense5	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELI
L.vannamei	DDQVILLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
F.chinensis	DDQVILLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
H.americanus	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
E.sinensis	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
C.sapidus3	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
C.sapidus10	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
P.trituberculatus	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
S.paramamosain	EDQVVLLKAGWNELLIAAFSHRSMGVKDGIVLATGLVVRSSAHQAGVGAIYDRVLSSELV
	:***:*. : ***** : ***** : * : . ***** : * : . . * : *** * : ***** :
H.raphidea21609	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKDLRNVSEVESLREKVYAAL EYTRNTYPDE---
M.nipponense2	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
M.nipponense5	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
L.vannamei	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
F.chinensis	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
H.americanus	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
E.sinensis	AKMKEMKMDKTELGLRSIVLFPNDAKGLIACNEVEILREKVYAAL EYTRNTYPHEPGR
C.sapidus3	SKMKEMKMDKTELGLRAIVLFPNDAKGLNCCNDVEILREKVYAAL EYTRNTYPDEPGR
C.sapidus10	SKMKEMKMDKTELGLRAIVLFPNDAKGLNCCNDVEILREKVYAAL EYTRNTYPDEPGR
P.trituberculatus	SKMKEMKMDKTELGLRAIVLFPNDAKGLNCCNDVEILREKVYAAL EYTRNTYPDEPGR
S.paramamosain	SKMKEMKMDKTELGLRAIVLFPNDAKGLNCCNDVEILREKVYAAL EYTRNTYPDEPGR
	:***:*. : ***** : ***** : * : . ***** : * : . . * : *** * : ***** :
H.raphidea21609	-----
M.nipponense2	FVKLVVITITSSQIYRPKTSLEYLFLFKLIGDTPLDNYLMKMLVDGPNNTNPNSSN-
M.nipponense5	FVKLVVITITSSQIYRPKTSLEYLFLFKLIGDTPLDNYLMKMLVDGPNNTNPNSSN-
L.vannamei	FAKLLLRPALRSI-GLKCLEYLFLFKLIGDTPLDNYLMKMLVENPNSSSPTT--
F.chinensis	FAKLLLRPALRSI-GLKCLEYLFLFKLIGDTPLDNYLMKMLMENPNSSSPTT--
H.americanus	FAKLLLRPALRSI-GLKCLEYLFLFKLIGDTPLDNYLMKMLVDNPNNTSPSS--
E.sinensis	FAKLLLRPALRSI-GLKCLEYLFLFKLIGDTPLESYLMKMLVDNPNSSSTTPPTS
C.sapidus3	FPKLLLRPLSLRSI-GLKCLEYLFFFKLIIGDTPLDNYLMKMLVDNPNSSSNTSPTS
C.sapidus10	FPKLLLRPLSLRSI-GLKCLEYLFFFKLIIGDTPLDNYLMKMLVDNPNSSSNTSPTS
P.trituberculatus	FPKLLLRPLSLRSI-GLKCLEYLFFFKLIIGDTPLDNYLMKMLVDNPNSSSNTSPTS
S.paramamosain	FPKLLLRPLSLRSI-GLKCLEYLFFFKLIIGDTPLDNYLMKMLVDNPNSSSNTSPTS

ภาพที่ 3-33 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ่ง ตึกแทนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน retinoid-X receptor 2 ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือ โดเมน ZnF\_C4 และสี่ฟ้าคือโดเมน HOLI

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ่งตึกแทนหางจุด โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* และกุ้งแชบ๊วย *Fenneropenaeus chinensis* มากที่สุดที่ 100 % ทำให้ทราบว่ากลุ่มโปรตีน retinoid-X receptor 2 ในกิ่งตึกแทนหางจุดมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มปู หนอน หอยนางรม แมงดา แอตแลนติก และแมลงวัน ดังภาพที่ 3-34



ภาพที่ 3-34 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในกิ่งตึกแทนหางจุด โดยใช้ *P. trituberculatus* (AHJ81363.1), *M. nipponense1* (AHA33388.1), *C. sapidus* (AET06182.1), *L. vannamei* (AGG55291.1), *M. nipponense2* (AHA33387.1), *S. paramamosain* (ALM98948.1), *F. chinensis* (ACN78602.1), *E. sinensis* (AHF65152.1), *H. americanus* (AGI15961.1) และ *C. sapidus2* (AGB34183.1)

### 3.3.6 ยีน ecdysone receptor

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในของกิ้งกักแตนหางจุดพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 724 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 241 ตัว โดยยีน ecdysone receptor พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.31e-39$  และ Pfam:Hormone\_recep มีค่า E-value เท่ากับ 0.000003 ดังตารางที่ 3-33 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-35 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอจากกิ้งกักแตนหางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีความคล้ายกับของยีน ecdysone receptor ในกิ้งกักมกราม *Macrobrachium rosenbergii* ปูก้ามดาบ *Uca pugillator* กุ้งแม่น้ำ *Macrobrachium nipponense* ปู *Callinectes sapidus* ปูม้า *Portunus trituberculatus* และกุ้ง *Crangon crangon* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-34

ตารางที่ 3-33 โดเมนที่พบบนยีน ecdysone receptor ในกิ้งกักแตนหางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
ZnF_C4	30	101	$1.31e-39$
Pfam:Hormone_recep	187	232	0.000003

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโน จากภาพที่ 3-36 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-35

ตารางที่ 3-34 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลในท้องสมุทรีนด้วยวิธี BLASTX ของยีน ecdysone receptor ในกิ่งตักแทนทางจุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Indentities	Accession
ecdysone receptor [ <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ]	357	357	99%	2e-117	71%	AKL71618.1
ecdysone receptor [ <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ]	345	345	99%	3e-112	64%	AKL71617.1
ecdysteroid receptor [ <i>Uca pugillator</i> ]	339	339	99%	2e-110	67%	AAC33432.2
ecdysone receptor [ <i>Macrobrachium nipponense</i> ]	340	340	99%	2e-109	64%	AHA33385.1
ecdysone receptor [ <i>Callinectes sapidus</i> ]	337	337	99%	2e-109	68%	AET06180.1
ecdysteroid receptor isoform 3 [ <i>Uca pugillator</i> ]	331	331	97%	8e-109	68%	AIE88263.1
ecdysteroid receptor [ <i>Portunus trituberculatus</i> ]	334	334	99%	2e-108	68%	AFH35032.1
ecdysone receptor [ <i>Macrobrachium rosenbergii</i> ]	334	334	99%	2e-108	68%	AKL71619.1
ecdysteroid receptor isoform 3 [ <i>Crangon crangon</i> ]	329	329	96%	2e-108	68%	ACO44667.1
ecdysteroid receptor isoform 1 [ <i>Uca pugillator</i> ]	330	330	97%	3e-108	67%	AIE88261.1

```

-28:                                     cacgtcgtcccattcaggtcgtgaggat :0
 1: ATGTCATCTCCACTGTCTCTGACTGGCTACAGCGTGGATAGCGTTAATGACGGCAAGAAA :60
    M S S P L S L T G Y S V D S V N D G K K
 61: AAGAAAGGGCCTGCAACGAGGCAGCAA GAAGAACTCTGTCTCGTCTGTGCAGATCGCGCT :120
    K K G P A T R Q Q E E L C L V C A D R A
121: TCTGGCTACCACTACAATGCGCTCAGATGTGAAGGTTGCAAAGGATCTTTTCGACGTTCT :180
    S G Y H Y N A L T C E G C K G F F R R S
181: GTCACACGGAATGCAGTCTACCAATGTAATATGGCAAAAATTGTGAGATGGACATGTAT :240
    V T R N A V Y Q C K Y G K N C E M D M Y
241: ATGAGACGTAAATGCCAGGAATGCCGCTTAAAGAAATGCCTCAGTGTGGCATGAGACCA :300
    M R R K C Q E C R L K K C L S V G M R P
301: GAA TGTGTGGTGCCAGAACAACAGTGTGTTGGTGAAGAGAAAGCAAGCAAGGCAAGGTG :361
    E C V V P E Q Q C L V K R E A K K A K V
361: AAGAGCAACCGCAAAGAGATAAGCAGTCAATCTCCAGTAGCTGTGGATGGCAACTCACCT :420
    K S N R K E I S S Q S P V A V D G N S P
421: GAAATACCTGGACCCCTCAGTACAAACAGGGTCCTTTCCCCTGAGCAGGATGAACTCATC :480
    E I P G P L S T N R V L S P E Q D E L I
481: CAGAGACTCGTGTACTTCCAGGAGAAATATGAAGAGCCCTCCAAGGTCGAGCTAGATAAC :540
    Q R L V Y F Q E K Y E E P S K V E L D N
541: TTAGCTCATTGCTTCGAT GGTGAGGACCCAGTGACCTGAGATTCAAGCACATAACAGAG :600
    L A H C F D G E D P S D L R F K H I T E
601: ATGACGATACTCACAGTTCAGCTAATCATTGAGTTCGCCAAGAGCCTACCTGGGTTTGAT :660
    M T I L T V Q L I I E F A K S L P G F D
661: AACCTGCATCGTGAAGATCAGATTACTCTACTGAAG :696
    N L H R E D Q I T L L K

```

ภาพที่ 3-35 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ้ง  
 ตั๊กแตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start  
 codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4, สีเขียวคือโดเมน Pfam:Hormone\_recep

```

H.raphidea38631 -----
U.pugilator3 -----MAKVL-----ATARVDGM
U.pugilator10 -----
U.pugilator6 -----
C.sapidus -----M
P.trituberculatus -----M
M.nipponense MEFPRDSPYRGRGMMGHRSPPPQTSSSSSSSSSSSSSSSLAHTLVSPKMDPPSPYVGGG
C.crangon -----
M.rosenbergii8 -----MAKVLST--GGGGGSQVGGM
M.rosenbergii1 -----MAKVLST--GGGGGSQVGGM
M.rosenbergii2 -----MAKVLST--GGGGGSQVGGM
    
```

```

H.raphidea38631 -----
U.pugilator3 FVLGSGVATLNLST-MGDESCSEVSSSSPLTSPGALSPPALVSVGVSVGMSPPTSLASSD
U.pugilator10 -----
U.pugilator6 -----
C.sapidus FVLGSGVATLNLNSA-MGDESCSEVSSSSPLTSPGALSPPALVSVGVNVGMSPPTSLASSD
P.trituberculatus FVLGSGVATLNLNSA-MGDESCSEVSSSSPLTSPGALSPPALVSVGVNVGMSPPTSLASSD
M.nipponense PLVGGSPGLIPRSP--VSPADVVKTEPPVSPSPDYPPAGMMMSHKKPRCDPRMGGGG
C.crangon -----
M.rosenbergii8 YVLGSGSATLTLAAVSDSECEVSSSSPLTAPSSLPALVNVGLSVGMSPPTSLASSD
M.rosenbergii1 YVLGSGSATLTLAAVSDSECEVSSSSPLTAPSSLPALVNVGLSVGMSPPTSLASSD
M.rosenbergii2 YVLGSGSATLTLAAVSDSECEVSSSSPLTAPSSLPALVNVGLSVGMSPPTSLASSD
    
```

```

H.raphidea38631 -----
U.pugilator3 IGEVDLDFWDLNLNSPSP--PHGMASVAST-----NALLLNPRAVA
U.pugilator10 -----
U.pugilator6 -----
C.sapidus IGEVDLDFWDLNLNSPSP--PHGMASIAST-----NALLLNPRAMA
P.trituberculatus IGEVDLDFWDLNLNSPSP--PHGMASIAST-----NALLLNPRAMA
M.nipponense VGDWAPSPCNMSVDSLSPPPHHHGGGSSSSNGLSAGSLGHHHPSSGHLSPSSSSSYD
C.crangon -----
M.rosenbergii8 IGEVDLDFWDLNLNSHSP--PHGLAAAAS-----TTSVLVERGIK
M.rosenbergii1 IGEVDLDFWDLNLNSHSP--PHGLAAAAS-----TTSVLVERGIK
M.rosenbergii2 IGEVDLDFWDLNLNSHSP--PHGLAAAAS-----TTSVLVERGIK
    
```

```

H.raphidea38631 -----MSSPLSLTGYSVDSVNDGKKKKGPATROC EELCLVCGDRASGYHYNA
U.pugilator3 SPSDTSSLSGRDDMSPSSLSNFGADSYGDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
U.pugilator10 -----RDDMSPSSLSNFGADSYGDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
U.pugilator6 -----RDDMSPSSLSNFGADSYGDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
C.sapidus SPSDTSSLSGRDDMSPSSVGNYSADSFGLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
P.trituberculatus SPSDTSSLSGRDDMSPSSVSNYSADSFGLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
M.nipponense PNSPYPSKSGRDDMSPSSLNYSMDYSYDHRKKKGP IARQCEELCLVCGDRASGYHYNA
C.crangon -----MSPSSVNGYSMDSYGDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
M.rosenbergii8 AYSDTSSISGRDDMSPSSLNYSMDYSYDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
M.rosenbergii1 AYSDTSSISGRDDMSPSSLNYSMDYSYDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
M.rosenbergii2 AYSDTSSISGRDDMSPSSLNYSMDYSYDLKKKKGPIPRQCEELCLVCGDRASGYHYNA
    
```

```

H.raphidea38631 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPESQ
U.pugilator3 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
U.pugilator10 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
U.pugilator6 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
C.sapidus LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
P.trituberculatus LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
M.nipponense LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
C.crangon LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
M.rosenbergii8 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
M.rosenbergii1 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
M.rosenbergii2 LTCEGCKGFFRRSITRNAVYQCKYGNCEMDMYMRRKQECRLKKCLNVGMRPECVVPES
    
```

ภาพที่ 3-36 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ้งกักเตน หางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน ecdysone receptor ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่เหลี่ยมคือโดเมน Pfam:Hormone\_recep

```

H.raphidea38631  QCLVKREAKKAKVKSNRKEISQSPVAVDGNS-P-----
U.pugilator3    CCQVKREQKKARDKD-KTYP SLGSP IAEDKA-AEISPVSK-----
U.pugilator10  CCQVKREQKKARDKD-KTYP SLGSP IAEDKA-AEISPVSK-----
U.pugilator6   CCQVKREQKKARDKD-KTYP SLGSP IAEDKA-AEISPM-----
C.sapidus      CCVVKREQKKLRDKDKKDYP SQGSPVAEEKA-VETSPM-----
P.trituberculatus  CCQVKREQKKLRDKDKKDYP SQGSP LAEEKA-ITSPM-----
M.nipponense   CCQVKREQKKAREKDKKDYP SAGSPLVEDNKHSPLSPCKPKG-PSSASVPSYKSNNGTGS
C.crangon      CCQVKRDQKKAREKDKKDYP SVGSP IVEE-KHTPLSPCKPKGSPSSASAPAYKNSYSGSS
M.rosenbergii8  CCQVKREQKKAREKDKKDYP SAGSPLVEDNKHSPLS-----
M.rosenbergii1  CCQVKREQKKAREKDKKDYP SAGSPLVEDNKHSPLS-----
M.rosenbergii2  CCQVKREQKKAREKDKKDYP SAGSPLVEDNKHSPLSPCKPKG-PSSASVPSYKSNNGTGS
** ***: ** : * . : * **.: : *

H.raphidea38631  -----EIPGPLSTNRVLSPEQDEL IQR LVYFQEKYEEPSKVELDNLAHCFDGEDPSDL
U.pugilator3    -----DMSAAPRLNVKPLTREQEELINTLVVYQEEFEQPT EADVKKIRFNFDGEDTSDM
U.pugilator10  -----DMSAAPRLNVKPLTREQEELINTLVVYQEEFEQPT EADVKKIRFNFDGEDTSDM
U.pugilator6   -----SAAPRLNVKPLTREQEELINTLVVYQEEFEQPT EADVKKIRFNFDGEDTSDM
C.sapidus      -----SAGARSNVKPLTREQEELINTLVVYQEEFEQPT EADIKKIRFNFDGEDTSDM
P.trituberculatus  -----SAGARSNIKPLTREQEELINTLVVYQEEFEQPT EADIKKIRFNFDGEDTSDM
M.nipponense   FSITPLPLSRGGGTGAKPLTHEQQELIHTLVVYQEEFEQPS EADMKKIKFTFDGEDTSDL
C.crangon      ISLSPLPMTRL--SGVKPLTHEQQELIHTLVVYQEEFEQPS EADLKKIKFTFDGEDTSDL
M.rosenbergii8  ----PLPLSRGGGTGAKPLTHEQQELIHTLVVYQEEFEQPS EADMKKIKGNDLVEDSEA
M.rosenbergii1  ----PLPLSRGGGTGAKPLTHEQQELIHTLVVYQEEFEQPS EADMKKIKFTFDGEDTSDL
M.rosenbergii2  FSITPLPLSRGGGTGAKPLTHEQQELIHTLVVYQEEFEQPS EADMKKIKFTFDGEDTSDL
: * : ** : ** : ** : ** : ** : ** : ** : ** : ** : ** : ** :

H.raphidea38631  RFRKHITEMTILTVQLIIEFAKSLPGFDNLHREDQITLLK-----
U.pugilator3    RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFATLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
U.pugilator10  RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFATLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
U.pugilator6   RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFATLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
C.sapidus      RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFGTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARFYDAKTD
P.trituberculatus  RFRKHITGMITILTVQLIIVEFSKQLPGFGTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARFYDAKTD
M.nipponense   RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFDTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
C.crangon      RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFDTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
M.rosenbergii8  KFRHITDMTILTVQLIIVEFSKHLPGFDTLREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
M.rosenbergii1  RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFDTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
M.rosenbergii2  RFRKHITEMTILTVQLIIVEFSKQLPGFDTLQREDQITLLKCSSEVMMLRAARRYDAKTDS
:* *** *****: ** : * ***** . * *****

H.raphidea38631  IVFGNNYPYTOASYALAGLGEAEILFRFCRSLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPNLKE
U.pugilator3    IVFGNNYPYTOASYALAGLGEAEILFRFCRSLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPNLKE
U.pugilator10  IVFGNNYPYTOASYALAGLGEAEILFRFCRSLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPNLKE
U.pugilator6   IVFGNTLPYTQTSYEFAGLGESSQILFRFCRNLCKMKVDNAEYALLSAIIFSERPNLKE
C.sapidus      IVFGNTLPYTQTSYEFAGLGDSSQILFRFCRNLCKMKVDNAEYALLSAIIFSERPNLKE
P.trituberculatus  IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPSLKE
M.nipponense   IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPSLKE
C.crangon      IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSGKTSQLA
M.rosenbergii8  IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPSLKE
M.rosenbergii1  IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPSLKE
M.rosenbergii2  IVFGNNYPYTLDSYESAGLGEAGAIQFCRNLCKMKVDNAEYALLAAIAIFSERPSLKE

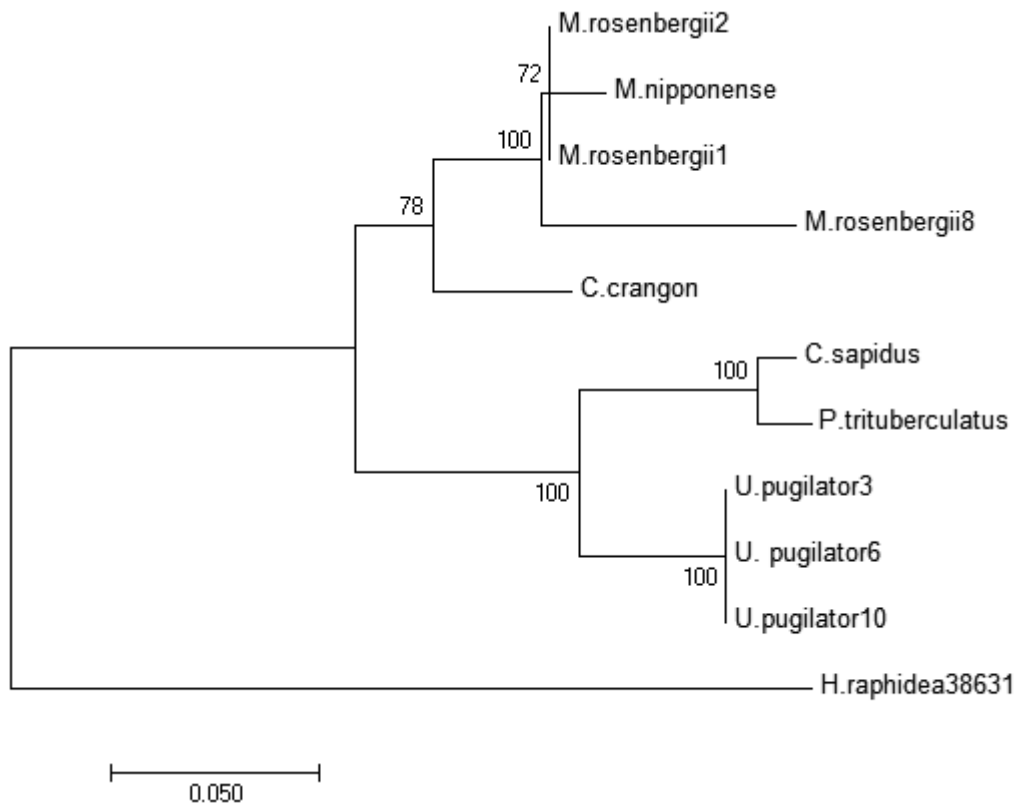
H.raphidea38631  -----
U.pugilator3    LKKVEKLQEIYLEALKSYVENRRLPRSNMVF AKLLN IL TELR TLGNINSEMCF SLTLKKN
U.pugilator10  LKKVEKLQEIYLEALKSYVENRRLPRSNMVF AKLLN IL TELR TLGNINSEMCF SLTLKKN
U.pugilator6   LKKVEKLQEIYLEALKSYVENRRLPRSNMVF AKLLN IL TELR TLGNINSEMCF SLTLKKN
C.sapidus      LQKVEKLQEIYLDALRAYVCNQRFPRPGMVF AKLLN IL TELR TLGNINSEVCF SLKLNK
P.trituberculatus  LQKVEKLQEIYLDALKAYVCNQKFP RP GMLF AKLLN V L TELR TLGNINSEVCF SLKLNK
M.nipponense   PHKVEKLQEIYLEALKAHVENRRT PRSSVVF AKLLN IL TDLR TLGNINSEMCF SLTLKKN
C.crangon      FSI SYK-----SSGQKNT-----
M.rosenbergii8  PHKVEKLQEIYLEALKAHVENRRT PRSSVVF AKLLN IL TDLR TLGNINSEMCF SLTLKKN
M.rosenbergii1  PHKVEKLQEIYLEALKAHVENRRT PRSSVVF AKLLN IL TDLR TLGNINSEMCF SLTLKKN
M.rosenbergii2  PHKVEKLQEIYLEALKAHVENRRT PRSSVVF AKLLN IL TDLR TLGNINSEMCF SLTLKKN

H.raphidea38631  -----
U.pugilator3    RLPPFLAEIWDVSGY---
U.pugilator10  RLPPFLAEIWDVSGY---
U.pugilator6   RLPPFLAEIWDVSGY---
C.sapidus      RLPPFLAEIWDVAGC---
P.trituberculatus  RLPPFLAEIWDVAGC---
M.nipponense   KLPPFLAEIWDIHSCDQY
C.crangon      -----
M.rosenbergii8  KLPPFLAEIWDIHSCDQY
M.rosenbergii1  KLPPFLAEIWDIHSCDQY
M.rosenbergii2  KLPPFLAEIWDIHSCDQY
    
```

ภาพที่ 3-36 (ต่อ) การแสดงความคล้ายคลึงของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ่ง ต่อกันทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกโฮโมโลงในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน ecdysone receptor ใช้

สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4 และสี่เหลี่ยมคือโดเมน Pfam:Hormone\_recep

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ่งตึกแทนทางจุด โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับปู *Callinectes sapidus*, ปูม้า *Portunus trituberculatus* และปูก้ามดาบ *Uca pugilator* มากที่สุดที่ 100% ทำให้ทราบว่ายีน ecdysone receptor ในกิ่งตึกแทนทางจุดมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มปูและกุ้งชนิดอื่น ๆ ดังภาพที่ 3-37



ภาพที่ 3-37 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในกิ่งตึกแทนทางจุดโดยใช้ *M. rosenbergii1* (AKL71618.1), *M. rosenbergii2* (AKL71617.1), *U. pugilator* (AAC33432.2), *M. nipponense* (AHA33385.1), *C. sapidus* (AET06180.1), *U. pugilator3* (AIE88263.1), *P. trituberculatus* (AFH35032.1), *M. rosenbergii3* (AKL71619.1), *C. crangon* (ACO44667.1) และ *U. pugilator1* (AIE88261.1)



### 3.3.7 ยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในของกิ้งกั๊กเตนหางจุดพบว่ามียีนลำดับนิวคลีโอไทด์ 363 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 121 ตัว โดยยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $8.14e-36$  ดังตารางที่ 3-35 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโนมาเรียงลำดับด้วยโปรแกรม six frame translation ได้ผลดังภาพที่ 3-38 และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอจากกิ้งกั๊กเตนหางจุดที่ได้จากเทคนิคเอ็นจีเอสกับข้อมูลในท้องสมุดยีนด้วยวิธี BLASTX พบว่ามีความคล้ายกับของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในแมงดาแอดแลนติก *Limulus polyphemus* หอยปากเปิด *Lingula anatina* ผึ้ง *Bombus terrestris* มด *Camponotus floridanus* ผึ้ง *Megachile rotundata* โพลีคีท *Capitella teleta* ชิมแปนซีแคระ *Pan paniscus* และหอยนางรม *Crassostrea gigas* ตามลำดับ ดังตารางที่ 3-36

ตารางที่ 3-35 โดเมนที่พบบนยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในกิ้งกั๊กเตนหางจุด ที่ได้จากเทคนิค Next generation sequencing technology ด้วยหลักการของเครื่อง Illumina

Name	Start	End	E-value
ZnF_C4	1	71	$8.14e-36$

เมื่อนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ และลำดับกรดอะมิโน จากภาพที่ 3-37 ไปศึกษาความเหมือนกันของยีนกับสิ่งมีชีวิตอื่นด้วยโปรแกรม CLUSTAL W (1.2.1) ได้ผลดังภาพที่ 3-39

```

-54:          gggtcggcctcgtcggcgcccagtcggacgggggacgacaagaacgcgcagaac :0
  1:  ATGTCCTGCGTCGTTTGCGGAGACAAGTCCTCGGGCAAACACTACGGCCAATTCACGTGT :60
      M S C V V C G D K S S G K H Y G Q F T C
  61:  GAAGGTTGCAAGAGCTTCTCAAGAGATCAGTTCGCCGAAATCTCCAGTACTCTTGTGCG :120
      E G C K S F F K R S V R R N L Q Y S C R
 121:  GGGAAACCGGAACTGCCCGATCGACCAGCACCACCAGAAACCAGTGCCTACTGCCGACTC :180
      G N R N C P I D Q H H R N Q C Q Y C R L
 181:  AGAAAAATGTCTTAAGGTCGGGATGAGAAGAGAA GCCGTGCAAAGAGGTGCGCATCCCGCCT :240
      R K C L K V G M R R E A V Q R G R I P P
 241:  TCGCAGGCCATGGGCATGCCAGGACAGTTTCCGCTCACGAACGGGGATGCCCTCAACGGC :300
      S Q A M G M P G Q F P L T N G D A L N G
 301:  CACACATAC :309
      H T Y
  
```

ภาพที่ 3-38 ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน ของ nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งกั๊กเตนหางจุดเมื่อผ่านการ BLASTX โดยตัวอักษรพิมพ์เล็กคือลำดับนิวคลีโอไทด์ก่อนถึง start codon โดยสัญลักษณ์สีเหลืองคือโดเมน ZnF\_C4

**ตารางที่ 3-36** การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตรงกับข้อมูลในท้องสมมุติในตัวอย่างวิธี BLASTX ของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในกิ่งต่าเด่นทางชุด

Description	Max score	Total score	Query cover	E-value	Identities	Accession
PREDICTED: nuclear receptor superfamily 2 group F member 1-A-like [ <i>Limulus polyphemus</i> ]	206	206	90%	5e-62	84%	XP_013774988.1
PREDICTED: COUP transcription factor 2-like isoform X1 [ <i>Lingula anatina</i> ]	204	204	94%	6e-61	82%	XP_013394781.1
PREDICTED: nuclear receptor superfamily 2 group F member 1-A-like [ <i>Limulus polyphemus</i> ]	198	198	90%	4e-60	81%	XP_013790693.1
PREDICTED: steroid receptor seven-up, isoforms B/C [ <i>Bombus terrestris</i> ]	199	199	98%	2e-59	76%	XP_012174781.1
PREDICTED: steroid receptor seven-up, isoforms B/C [ <i>Camponotus floridanus</i> ]	196	196	98%	4e-59	75%	XP_011263764.1
PREDICTED: steroid receptor seven-up, isoforms B/C [ <i>Megachile rotundata</i> ]	198	198	98%	6e-59	75%	XP_012140861.1
hypothetical protein CAPTEDRAFT_171549 [ <i>Capitella teleta</i> ]	199	199	90%	6e-59	79%	ELT89160.1
PREDICTED: COUP transcription factor 1 [ <i>Pan paniscus</i> ]	197	197	95%	6e-59	72%	XP_014200330.1
PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-gamma-like isoform X3 [ <i>Crassostrea gigas</i> ]	197	197	98%	9e-59	75%	XP_012542052.1
PREDICTED: COUP transcription factor 2-like isoform X2 [ <i>Lingula anatina</i> ]	198	198	94%	2e-58	81%	XP_013394783.1

```

L.polyphemus1 -----MALAVTSWRDPP-----PTA-----GVSVPET-D
L.polyphemus3 -----MALAVASWRDPP-----PND-----GSTVTET-D
C.teleta MAL-AVANQPNTVPTWGGHSAEDLAGTCTTPQTGPPPAVH----AQPTAGVTAPT--S
P.paniscus -----
C.floridanus -----MPPAHLTPSATPEDITCLVPAGSVLTSRDP
M.pharaonis -----MPPAHLTPSATPEDITCLVPAGSVLTSRDP
B.terrestris -----MPPTHLTPTSATPEDITCLVPTGAVLTPRDP
M.rotundata -----HLTPSATPEDITCLVPTGAVLTPRDP
H.raphidea47812 -----
L.anatina2 MAMTPVQSQTTPVVNTWHDPESEEL-NSPTQQQPPPPVNVNTPVQFVAQTPAGVPATPTSP
L.anatina10 MAMTPVQSQTTPVVNTWHDPESEEL-NSPTQQQPPPPVNVNTPVQFVAQTPAGVPATPTSP

L.polyphemus1 LTPQTPT-----DSHNGPPPPQPSTTSQTVDKNVQMECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
L.polyphemus3 LAPHTPT-----AVLNGPPPPN---TTSQNADKNLQMLECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
C.teleta QPPQPPPSIVTDTSTST---PTSNNNNSPFGNSDKTAQTI ECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
P.paniscus -----PGAPATPA-----RRGTRPGPPG--SGQSQQIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
C.floridanus LPPSTTPGSQANSS-----QSGSSQTDKSPNIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
M.pharaonis LPPSTTPGSQANSS-----QSGSSQTDKSPNIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
B.terrestris LPPSTTPGSQANSS-----QSGSSQTDKSPNIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
M.rotundata LPPSTTPGSQANSS-----QSGSSQTDKSPNIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
H.raphidea47812 -----MSCVVCGDKSSGKHYGQFTCE
L.anatina2 TTPQQPPQQPSQQQQQGQQGQTPGSQTPSGENKQQIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
L.anatina10 TTPQQPPQQPSQQQQQGQQGQTPGSQTPSGENKQQIECVVCGDKSSGKHYGQFTCE
:.*:*****

L.polyphemus1 GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRLPPT
L.polyphemus3 GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRLPPT
C.teleta GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRVPPT
P.paniscus GCKSFFKRSVRRNLTYTCRANRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKVGMRREAVQRGRMPPT
C.floridanus GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRVPPT
M.pharaonis GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRVPPT
B.terrestris GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRVPPT
M.rotundata GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKMGMRREAVQRGRVPPT
H.raphidea47812 GCKSFFKRSVRRNLQYTCRGNRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKVGMRREAVQRGRIPPT
L.anatina2 GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGSRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKSGMRREAVQRGRIPPT
L.anatina10 GCKSFFKRSVRRNLTYTCRGSRNCPIVDOHHRNCCQYCRLLKCLKSGMRREAVQRGRIPPT
***** *:*.*:*****:*****:***:**** ***** * :

L.polyphemus1 Q---HGLPGQMTLTNGDT-----LNGHSYLSSFISLLLRAEYPYQPTRYA-QCMQPNNFMG
L.polyphemus3 Q---HALPGQMALTINGDS-----MNGHSYLSSFISLLLRAEYEPSRYG-QCMQSNNIMG
C.teleta Q---HPGFPGQLALANTDP-----FSGHTYLSSFISMLLRAEYPMSTRYG-QCMQPNNIMG
P.paniscus QPN---PGQYALTINGDP-----LNGHCYLSGYISLLLRAEYPTSTRYGSQCMQPNNIMG
C.floridanus QPSLPGLPGQFALTINGDAVACAGLNGHNYLSSYISLLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
M.pharaonis QPSLPGLPGQFALTINGDAVACAGLNGHSYLSSYISLLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
B.terrestris QPSLPGLPGQFALTINGDAVACANLNGHTYLSSYISLLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
M.rotundata QPSLPGLPGQFALTINGDAVACASLNGHSYLSSYISLLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
H.raphidea47812 Q---AMGMPPGQFPLTINGDA-----LNGHTY-----
L.anatina2 Q---HPGFPGQLALTINGDP-----LNGHTYLSSFISMLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
L.anatina10 Q---HPGFPGQLALTINGDP-----LNGHTYLSSFISMLLRAEYPTSTRYG-QCMQPNNIMG
* **** *:* * :.* *

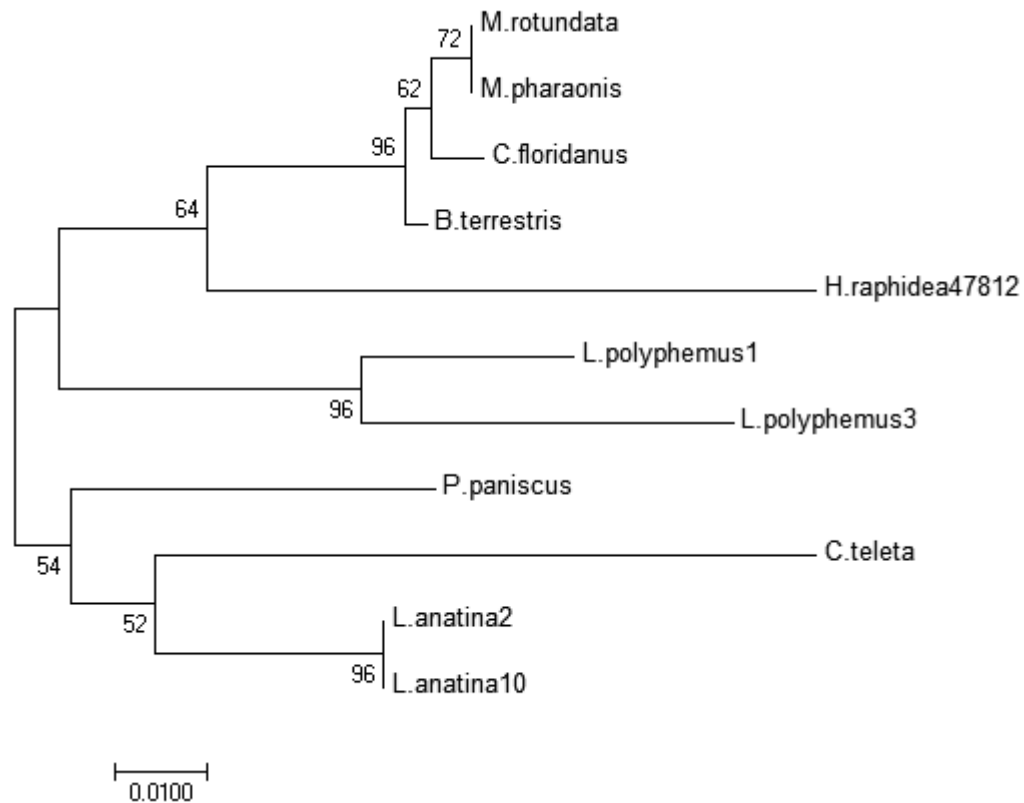
```

ภาพที่ 3-39 การแสดงความคล้ายคลึงของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งกักเตนทางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกออร์โมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4

L.polyphemus1	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQITDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
L.polyphemus3	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQITDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
C.teleta	IENICELAARLLFSAVEWGRNIPFFPDLQVADQVALLRLAWSELVFLNAAQCAMPLHVAP
P.paniscus	IENICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQITDQVSLRLTWSELVFLNAAQCAMPLHVAP
C.floridanus	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
M.pharaonis	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
B.terrestris	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
M.rotundata	IDNICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLVWSELVFLNASQCSMPLHVAP
H.raphidea47812	-----
L.anatina2	IENICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLCWSELVFLNAAQCNMPLHVAP
L.anatina10	IENICELAARLLFSAVEWARNIPFFPDLQVTDQVALLRLCWSELVFLNAAQCNMPLHVAP
L.polyphemus1	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTTDCGI
L.polyphemus3	LLAAAGLHASPMAADHVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTT-----
C.teleta	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTSSDACGL
P.paniscus	LLAAAGLHASPMSADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVXXXXXXXXXGAVLLEVSDACGL
C.floridanus	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTTGESEI
M.pharaonis	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTTDCGL
B.terrestris	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTTDCGL
M.rotundata	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTTDCGL
H.raphidea47812	-----
L.anatina2	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTSSDACGL
L.anatina10	LLAAAGLHASPMAADRNVAFMDHIRIFQEQVEKALKALHVDAAEYSCLKAIIVLFTSSDACGL
L.polyphemus1	SDVGHIESLQEKSQCALEEYCRTQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSSQVIEQLFFVRLVG
L.polyphemus3	-----
C.teleta	SDSAHIESLQEKQAQCALEEYDRSQYPNQPTRFGKLLRLPSLRSVSAQVIEQLFFVRLVG
P.paniscus	SDAAHIESLQEKSQCALEEYVRSQYPNQPSRFGKLLRLPSLRTVSSSVIEQLFFVRLVG
C.floridanus	NVRF-----
M.pharaonis	SDVAHIESLQEKSQCALEEYCRTQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSSQVIEQLFFVRLVG
B.terrestris	SDVTHIESLQEKSQCALEEYCRTQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSSQVIEQLFFVRLVG
M.rotundata	SDVAHIESLQEKSQCALEEYCRTQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSSQVIEQLFFVRLVG
H.raphidea47812	-----
L.anatina2	SDQGHIESLQEKSQCALEEYVRSQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSAQVIEQLFFVRLVG
L.anatina10	SDQGHIESLQEKSQCALEEYVRSQYPNQPTRFGKLLRLPSLRTVSAQVIEQLFFVRLVG
L.polyphemus1	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMSLQ--
L.polyphemus3	-----
C.teleta	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMPIQ--
P.paniscus	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMSIQCS
C.floridanus	-----
M.pharaonis	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYITTM--
B.terrestris	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMSTM--
M.rotundata	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMSTM--
H.raphidea47812	-----
L.anatina2	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMAIQ--
L.anatina10	KTP IETLIRDMLLSGSSFNWPYMAIQ-

**ภาพที่ 3-39 (ต่อ)** การแสดงความคล้ายคลึงของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ้งกักแทนหางจุดกับสิ่งมีชีวิตในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยวิธี Nucleotide BLAST โดยกรดอะมิโน cysteine ที่พบในตำแหน่งเดียวกันของทุกฮอโรโมนในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มียีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ใช้สัญลักษณ์สีเทาเข้ม ส่วนตำแหน่งที่เหมือนกันในยีนทุกตัวใช้สัญลักษณ์สีเทา กรอบสี่เหลี่ยมคือโดเมน ZnF\_C4

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับกรดอะมิโนของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ่งตึกแดนทางจุดโดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0 พบว่ามีความสัมพันธ์กับแมงดาแอตแลนติก *Limulus polyphemus* มากที่สุด 96% ทำให้ทราบว่ายีน ecdysone receptor ในกิ่งตึกแดนทางจุดมีความคล้ายคลึงกัน และมีวิวัฒนาการร่วมกันเมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มปูและกุ้งชนิดอื่นๆ ดังภาพที่ 3-40



**ภาพที่ 3-40** การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในกิ่งตึกแดนทางจุด โดยใช้ *L. Polyphemus* (XP\_013774988.1), *L. anatine* (XP\_013394781.1), *L. Polyphemus* (XP\_013790693.1), *B. terrestris* (XP\_012174781.1), *C. floridanus* (XP\_011263764.1), *M. rotundata* (XP\_012140861.1), *C. teleta* (ELT89160.1), *P. paniscus* (XP\_014200330.1), *C. gigas* (XP\_012542052.1) และ *L. anatine* (XP\_013394783.1)

ตารางที่ 3-37 สรุปกลุ่มยีนตัวรับฮอร์โมน (Hormone receptor gene)

รหัส NGS	ชื่อยีน	สิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียง (Acc. No.)	E value, % Identity	ขนาดทั้งหมด (bp และ aa)	ขนาดเฉพาะส่วน open reading frame (bp และ aa)	ขนาด 5' UTR และขนาด 3' UTR	Domain	สายสัมพันธ์สิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียง
6598	estrogen-related receptor [Scylla paramamosain]	ADB43256.1	0.0, 76%	2,715 bp และ 905 aa	ทั้งหมด 1,386 bp และ 462 aa	5' UTR 360 bp และ 3' UTR 969 bp	ZnF_C4 และ HOLI	Portunus trituberculatus, Scylla paramamosain
20511	PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like [Saccoglossus kowalevskii]	XP_002731047.1	1e-157, 72%	2,039 bp และ 697 aa	ทั้งหมด 1,428 bp และ 476 aa	5' UTR 364 bp และ 3' UTR 247 bp	ZnF_C4 และ HOLI	Crassostrea gigas, Saccoglossus kowalevskii
56829	Putative nuclear hormone receptor HR38 [Zootermopsis nevadensis]	KDR09534.1	4e-167, 81%	2,351 bp และ 783 aa	ทั้งหมด 2,256 bp และ 752 aa	5' UTR 48 bp และ 3' UTR 47 bp	ZnF_C4 และ HOLI	Harpegnathos saltator, Orussus abietinus
21609	retinoid-X receptor 2 [Portunus trituberculatus]	AHJ81363.1	4e-155, 72%	1,169 bp* และ 389 aa	-	5' UTR 122 bp	ZnF_C4 และ HOLI	Litopenaeus vannamei, Fenneropenaeus chinensis
38631	ecdysone receptor [Macrobrachium rosenbergii]	AKL71618.1	2e-117, 71%	724 bp* และ 241 aa	-	5' UTR 28 bp	ZnF_C4 และ Pfam:Hormone_re cep	Callinectes sapidus, Portunus trituberculatus, Uca pugilator
47812	PREDICTED: nuclear receptor superfamily 2 group F member 1-A-like [Limulus polyphemus]	XP_013774988.1	5e-62, 84%	363 bp* และ 121 aa	-	5' UTR 54 bp	ZnF_C4	Limulus polyphemus

● หมายถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วน

## บทที่ 4

### อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย

#### 4.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้เทคโนโลยี Next Generation Sequencing (NGS)

การทำ *De novo* transcriptome assembly สามารถรวม read ที่ได้จาก Illumina platform เป็น transcripts ได้ทั้งหมด 93,344 transcripts และทำการตัดข้อมูลที่มีความน่าเชื่อถือ น้อยออกโดยทำการตัด transcripts ที่มีค่าการแสดงออกเป็น 0 ทั้งชุดทดลองและ ชุดควบคุม ทำให้ เหลือ transcripts เพียง 28,323 transcripts จากนั้นเปรียบเทียบค่า FPKM ในรูป  $\log_{10}$  และมีค่า ความแปรปรวนระหว่างชุดทดลองและ ชุดควบคุมไม่ต่ำกว่า 2 จะได้ข้อมูลค่าความแตกต่างในการ แสดงออกของแต่ละ transcripts ทั้งหมด 214 transcripts ซึ่งมีความแตกต่างจากการศึกษาของ Waiho *et al.* (2017) ซึ่งได้ทำการศึกษาวិเคราะห์ transcriptome และ ระดับการแสดงออกที่ แตกต่างกันของยีนใน testis ของปู orange mud crab (*Scylla olivacea*) ในระยะสมบูรณ์เพศ ที่ มีการออกแบบการทดลองให้สามารถเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเป็นคู่ ระหว่างแต่ละ maturation stage ของ *S. olivacea* กับระยะที่ยังไม่สมบูรณ์เพศ ทำให้ได้ค่า fold change ของ แต่ละคู่ และนำไปเปรียบเทียบกันในลักษณะของระดับการแสดงออกของยีนที่ต่างกันโดยที่มี base สำหรับการเปรียบเทียบเป็น base เดียวกันทำให้สามารถเปรียบเทียบได้อย่างชัดเจนโดยสามารถรวม reads เป็น transcripts ทั้งหมด 160,569 transcripts และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกันฐานข้อมูล โปรตีนต่างๆพบว่า 15-23% ของ transcripts ทั้งหมดที่ได้สามารถระบุโปรตีนบนฐานข้อมูลได้ ซึ่งใน วิธีการศึกษาโดยการอาศัย bioinformatic tools มาใช้ในการวิเคราะห์ผลการศึกษามีความ สอดคล้องกันกับการศึกษาในครั้งนี้ และเมื่ออ้างอิงวิธีการศึกษาจาก Conesa *et al.* (2016) พบว่าใน การศึกษานี้ไม่ได้มีการทำชุดการทดลองซ้ำ ทำให้ไม่สามารถรายงานผลในเชิงสถิติได้

ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับฮอร์โมน (*Hormone receptor gene*) ได้ใช้ หลักการของเครื่อง Illumina ซึ่งเครื่องอ่านลำดับเบสแบบเอ็นจีเอสในปัจจุบัน (next-generation sequencing platforms) มี 3 เทคโนโลยีหลัก ๆ ที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง หรือมักเรียกกันว่า Second generation NGS platforms ได้แก่ Roche/Gs-FLX 454 Genome sequencer, Illumina/Hiseq 2000 และ ABI/ SOLiD 5500xl สำหรับเทคโนโลยีอื่น ๆ เช่น Polonator/G.007 และเทคโนโลยีที่กำลังพัฒนาต่อเนื่องกันอยู่ หรือที่เรียกว่า Third generation NGS platforms เช่น Helicos/Helioscope ซึ่งมีหลายบริษัทที่พยายามนำข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นจาก Second generation NGS platforms มาปรับปรุงให้เทคโนโลยีการหาลำดับเบสมีความถูกต้องและราคาถูกลง สิ่ง ที่แตกต่างกันของเทคโนโลยีเหล่านี้ คือ การตรึงดีเอ็นเอต้นแบบให้อยู่กับที่ (template immobilization) วิธีสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ อัตราความผิดพลาด (error rate) และความยาวของ reads ที่ได้จากการอ่านลำดับเบส ดังตารางที่ 4.1 (อลิษา วิลันโท และคณะ, 2555)

**ตารางที่ 4-1** การเปรียบเทียบ Output ของเทคนิค NGS เทียบกับการทำ Nucleotide ด้วยเทคนิคอื่น ๆ

NGS technology	454/Roch	Illumina/Solexa	SOLID/ABI	Polonator/G.007	Helicos	SMRT (Pacific Biosciences)
Chemistry	Pyrosequencing	Polymerase-based	Ligation-based	Ligation-base	Reversible Dye terminators	Phospho-linked Fluorescent Nucleotides
Amplification	Emulsion PCR B	Bridge Amp	Emulsion PCR	Emulsion PCR	No (single molecule)	No (single molecule)
ลำดับจากการสังเคราะห์	Pyrosequencing	Reversible Dye terminators	Oligonucleotide probe ligation	Sequencing by igation using a random arrayed, bead-based, emulsion PCR	Single molecule sequencing	Single molecule real time
Paired ends/sep.	Yes/3 kb	Yes/200 bp	Yes/3 kb	Yes/13 bp	25-55 bp	NA
ข้อมูลการผลิต/วัน	400 Mb/run/7.5 ชม.	3,000 Mb/run/6.5 วัน	4,000 Mb/run/6 วัน	~16 Gb/run/2.5 วัน	8 วัน	0.02 วัน
Sequencing/run	10 ชม.	2-5 วัน	6 วัน	~80 ชม.	12	< 1
ความถูกต้องของผลิตรหัส	99.5%	>98.5%	99.94%	>98%	>99%	NA
อ่านค่าความยาว	400 bp	100 bp	50 bp	26 bp	35 average length	มากกว่า 1000
ค่าใช้จ่ายต่อการทำงาน(รวม)	\$8,439 หรือ ~ \$294,749	\$8,950 หรือ ~ \$312,597	\$17,447 หรือ ~ \$ 609,371	\$3,500 หรือ ~ \$ 122,244	ต่ำกว่า second NGS	ต่ำกว่า second NGS

ที่มา : อดิชา วิสันโท และคณะ, 255



#### 4.2 รูปแบบการแสดงออกของ transcripts ในเลือดของกั้งตักแตนหางจุด

รูปแบบการแสดงออกของ transcripts ทั้งหมด ถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยมีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มที่ 1/2 และกลุ่มที่ 2/2 และมีการแสดงออกลดลงในกลุ่มที่ 1/1 และกลุ่มที่ 2/1 ซึ่งพบยีนที่มีความน่าสนใจตามการจัดลำดับตามรูปแบบของ gene ontology จากฐานข้อมูล GO ได้ดังนี้

Transcripts TR8251|c0\_g3\_i1, TR51934|c0\_g1\_i1 และ TR30957|c0\_g1\_i1 เป็น transcripts ที่พบในกลุ่มที่ 1/1 ซึ่งถูกจัดระดับอยู่ในระดับสุดท้ายของ biological process (level 7) , molecular function (level 5) และ cellular component (level 5) และถูกระบุหน้าที่จากฐานข้อมูล GO ตาม GO ID ดังตารางที่ 4-2 พบว่าเป็น histone H1-delta-like ทั้งหมดจากการตรวจสอบจากฐานข้อมูล blastx โดยมีการแสดงออกลดลงเมื่อมีการติดเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* ซึ่งโปรตีน histone เป็นโปรตีนที่อยู่ในโครงสร้างของ chromatin โดยโปรตีน histones จะถูกแบ่งเป็น core histones (H2A, H2B, H3 และ H4) และ linker histones (H1 และ H5) ซึ่งในส่วนของ linker histones H1 ทำหน้าที่ในการเชื่อม DNA ให้อยู่ระหว่าง nucleosomes กับ compact chromatin และ histones ซึ่งมีความสอดคล้องกันกับงานวิจัยของ Nam *et al.* (2012) ที่ทำการศึกษานำ antimicrobial histone H1-like protein ของปลาตาเดียว (*Paralichthys olivaceus*) โดยพบว่าปลาอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เต็มไปด้วยแบคทีเรีย และมีหลายชนิดเป็นแบคทีเรียก่อโรคโดยตัวปลาสามารถผลิต antimicrobial peptides (AMPs) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันตัวเองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด อยู่ในรูปแบบของผิวหนัง และเมือกต่างๆ ซึ่งประกอบไปด้วย pardaxin, pleurocidin, piscidin, misgurin, bass hepcidin และ myxinidin จะเห็นได้ว่า AMPs ทั้งหมดเป็น peptides

นอกจากนี้ยังมีโปรตีนขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย เช่น histone-like proteins (HLPs) histones ที่มีคุณสมบัติเป็น AMPs สามารถระบุได้จาก N- หรือ C- terminus (fish histones) รวมถึงยังพบคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของ AMPs ใน reproductive tissues ของ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก และ สัตว์ทะเล จากการศึกษาของ Nam *et al.* 2012 ซึ่งได้ทำการศึกษาร่วมกันระหว่าง antimicrobial protein และ histone H1 ซึ่งได้แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบประกอบไปด้วย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus iniae* แบคทีเรียแกรมลบประกอบไปด้วย *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* D31, *Vibrio parahemolyticus* และ *Candida albicans* และจากการศึกษา cDNA cloning และ tissue distribution ของ histone H1-like protein ของปลาตาเดียว พบว่ามีระดับการแสดงออกที่ขึ้นอยู่กับ developmental stage และการลดจำนวนลงที่ละมามากๆหลังจากการฟัก อย่างไรก็ตามไม่พบ H1-like protein อยู่ในอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันอื่นๆเลย เช่น ไต และ ม้าม จากผลการศึกษาทำให้เห็นได้ว่า histone H1 มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลา ที่อยู่ในช่วงของการ reproduction ประกอบไปด้วย การผสมพันธุ์ การปฏิสนธิ และการฟักไข่

ตารางที่ 4-2 หน้าที่ของ transcripts TR8251|c0\_g3\_i1, TR51934|c0\_g1\_i1 และ TR30957|c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO

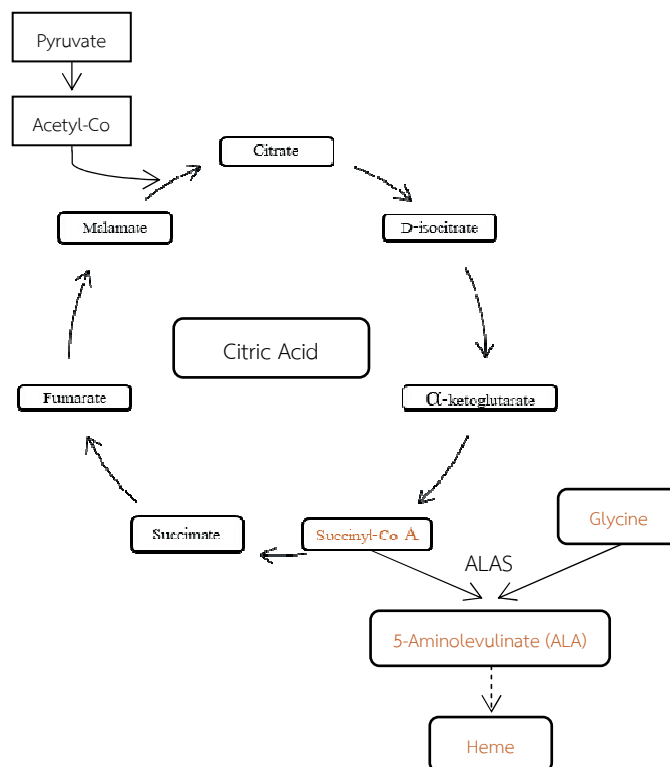
ID (Linked to Amigo)	Term	Type	Definition
GO:0000786	nucleosome	Cellular component	A complex comprised of DNA wound around a multisubunit core and associated proteins, which forms the primary packing unit of DNA into higher order structures.
GO:0005634	nucleus	Cellular component	A membrane-bounded organelle of eukaryotic cells in which chromosomes are housed and replicated. In most cells, the nucleus contains all of the cell's chromosomes except the organellar chromosomes, and is the site of RNA synthesis and processing. In some species, or in specialized cell types, RNA metabolism or DNA replication may be absent.
GO:0003677	DNA binding	Molecular function	Any molecular function by which a gene product interacts selectively and non-covalently with DNA (deoxyribonucleic acid).
GO:0006334	nucleosome assembly	Biological process	The aggregation, arrangement and bonding together of a nucleosome, the beadlike structural units of eukaryotic chromatin composed of histones and DNA.

Transcript TR33858|c0\_g1\_i1 เป็น transcript ในกลุ่มที่ 1/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* จากการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล blastx พบว่าเป็น cyclooxygenases และถูกจัดระดับตามรูปแบบ gene ontology ในระดับสุดท้ายของ biological process (level 9) และได้ถูกระบุหน้าที่จากฐานข้อมูล GO ตาม GO ID ไว้ดังตารางที่ 4-3 ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบ pathway arachidonic acid metabolism และ pathway phenylpropanoid biosynthesis ใน transcript TR33858|c0\_g1\_i1 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Varvas *et al.* (2009) ที่ได้ทำการศึกษา cyclooxygenase pathway ของกระบวนการสังเคราะห์ prostaglandin ใน arthropods ซึ่งได้รายงานการ cloning และการแสดงออกของ cyclooxygenase (COX) จาก *Gammarus* spp. และ *Caprella* spp. เป็นสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม amphipod โดย COX ของ amphipod เป็นข้อบ่งชี้ที่สำคัญสำหรับ cyclooxygenase และ peroxidase activity จากการศึกษพบว่า amphipod COX protein มีบทบาทเป็น N-glycosylate และอยู่ตำแหน่งเดียวกันกับ COX ในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่อยู่ใน endoplasmic reticulum และ nuclear envelope จากการถอดรหัส COX mRNAs ของ amphipod เพื่อระบุหน้าที่พบว่า COX ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยน arachidonic acid ไปเป็น ฮอร์โมน prostaglandins ที่ทำหน้าที่เป็น lipid mediator ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง และยังมีบทบาทในระบบสืบพันธุ์ ระบบภูมิคุ้มกัน และ ion transport ของสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม arthropods

ตารางที่ 4-3 หน้าที่ของ transcript TR33858|c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO

ID (Linked to Amigo)	Term	Type	Definition
GO:0016021	integral component of membrane	Cellulae component	The component of a membrane consisting of the gene products and protein complexes having at least some part of their peptide sequence embedded in the hydrophobic region of the membrane.
GO:0004601	peroxidase activity	Molecular function	Catalysis of the reaction: donor + hydrogen peroxide = oxidized donor + 2 H <sub>2</sub> O.
GO:0004666	prostaglandin-endoperoxide synthase activity	Molecular function	Catalysis of the reaction: arachidonate + donor-H <sub>2</sub> + 2 O <sub>2</sub> = prostaglandin H <sub>2</sub> + acceptor + H <sub>2</sub> O.
GO:0020037	heme binding	Molecular function	Interacting selectively and non-covalently with heme, any compound of iron complexed in a porphyrin (tetrapyrrole) ring.
GO:0006979	response to oxidative stress	Biological process	Any process that results in a change in state or activity of a cell or an organism (in terms of movement, secretion, enzyme production, gene expression, etc.) as a result of oxidative stress, a state often resulting from exposure to high levels of reactive oxygen species, e.g. superoxide anions, hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), and hydroxyl radicals.
GO:0008217	regulation of blood pressure	Biological process	Any process that modulates the force with which blood travels through the circulatory system. The process is controlled by a balance of processes that increase pressure and decrease pressure.
GO:0019371	cyclooxygenase pathway	Biological process	The chemical reactions and pathways by which prostaglandins are formed from arachidonic acid, and in which prostaglandin-endoperoxide synthase (cyclooxygenase) catalyzes the committed step in the conversion of arachidonic acid to the prostaglandin-endoperoxides PGG <sub>2</sub> and PGH <sub>2</sub> .
GO:0055114	oxidation-reduction process	Biological process	A metabolic process that results in the removal or addition of one or more electrons to or from a substance, with or without the concomitant removal or addition of a proton or protons.
GO:0098869	cellular oxidant detoxification	Biological process	Any process carried out at the cellular level that reduces or removes the toxicity superoxide radicals or hydrogen peroxide.
GO:0006804	obsolete peroxidase reaction	Biological process	OBSOLETE (was not defined before being made obsolete).
GO:0006691	leukotriene metabolic process	Biological process	The chemical reactions and pathways involving leukotriene, a pharmacologically active substance derived from a polyunsaturated fatty acid, such as arachidonic acid.

Transcripts TR31322|c0\_g1\_i1 และ TR31322|c0\_g2\_i1 เป็น transcripts ในกลุ่มที่ 2/1 มีลักษณะการแสดงออกลดลงเมื่อได้รับการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* จากการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล blastx พบว่าเป็น 5-aminolevulinate erythroid- mitochondrial และถูกจัดระดับตามรูปแบบ gene ontology ในระดับสุดท้ายของ biological process (level 6) , molecular function (level 8) และ cellular component (level 5) และพบ pathway จำนวน 2 pathway ซึ่งประกอบไปด้วย Glycine, serine and threonine metabolism และ Porphyrin and chlorophyll metabolism โดยจากการศึกษาของ Hunter and Ferreira. (2011) พบว่า pyridoxal-5'-phosphate (PLP) เป็นปัจจัยที่ทำงานร่วมกับ homodimeric mitochondrial enzyme 5-aminolevulinate synthase (ALAS) เพื่อควบคุม metabolic flux ไปสู่ porphyrin biosynthetic pathway ในสัตว์, fungi และ  $\alpha$ -subclass of proteobacteria ALAS เป็นตัวกระตุ้น PLP-dependent reaction ของ glycine กับ succinyl-Coenzyme A เพื่อสร้าง Coenzyme A, carbon dioxide และ ALA และเป็นขั้นแรกในการศึกษาทั้งหมดของ biological tetrapyrroles, hemes, chlorophylls และ cobalamins โดยที่ ALAS จะพบในเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่เป็น eukaryotes ที่ไม่ใช่พืช และ  $\alpha$ -subclass of proteobacteria ALAS มีบทบาททั้งในการสร้าง heme และ cytochrome ในกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน โดยการทำงานร่วมกันของ succinyl-Coenzyme A ดังภาพที่ 4-1 ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการควบคุมการสังเคราะห์ porphyrin ซึ่ง porphyrin มีบทบาทใน 2 ลักษณะดังนี้ hemoglobin biosynthesis ใน developing erythrocytes (ALAS-2) และมีการแสดงออกในทุกเนื้อเยื่อ สำหรับการผลิต cytochromes และ hemoproteins (ALAS-1)

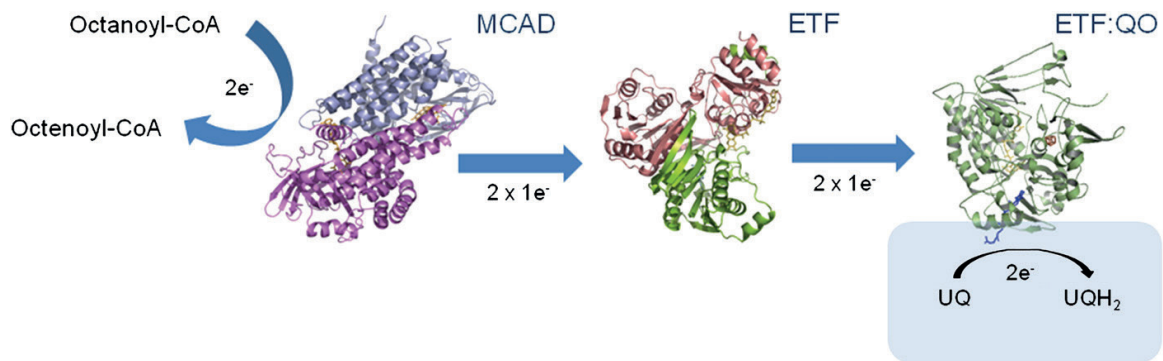


ภาพที่ 4-1 ALAS heme biosynthesis to aerobic respiration

ตารางที่ 4-4 หน้าที่ของ transcripts TR31322|c0\_g1\_i1 และ TR31322|c0\_g2\_i1 จากฐานข้อมูล GO

ID (Linked to Amigo)	Term	Type	Definition
GO:0016021	integral component of membrane	Cellulae component	The component of a membrane consisting of the gene products and protein complexes having at least some part of their peptide sequence embedded in the hydrophobic region of the membrane.
GO:0004601	peroxidase activity	Molecular function	Catalysis of the reaction: donor + hydrogen peroxide = oxidized donor + 2 H <sub>2</sub> O.
GO:0004666	prostaglandin-endoperoxide synthase activity	Molecular function	Catalysis of the reaction: arachidonate + donor-H <sub>2</sub> + 2 O <sub>2</sub> = prostaglandin H <sub>2</sub> + acceptor + H <sub>2</sub> O.
GO:0020037	heme binding	Molecular function	Interacting selectively and non-covalently with heme, any compound of iron complexed in a porphyrin (tetrapyrrole) ring.
GO:0006979	response to oxidative stress	Biological process	Any process that results in a change in state or activity of a cell or an organism (in terms of movement, secretion, enzyme production, gene expression, etc.) as a result of oxidative stress, a state often resulting from exposure to high levels of reactive oxygen species, e.g. superoxide anions, hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), and hydroxyl radicals.
GO:0008217	regulation of blood pressure	Biological process	Any process that modulates the force with which blood travels through the circulatory system. The process is controlled by a balance of processes that increase pressure and decrease pressure.
GO:0019371	cyclooxygenase pathway	Biological process	The chemical reactions and pathways by which prostaglandins are formed from arachidonic acid, and in which prostaglandin-endoperoxide synthase (cyclooxygenase) catalyzes the committed step in the conversion of arachidonic acid to the prostaglandin-endoperoxides PGG <sub>2</sub> and PGH <sub>2</sub> .
GO:0055114	oxidation-reduction process	Biological process	A metabolic process that results in the removal or addition of one or more electrons to or from a substance, with or without the concomitant removal or addition of a proton or protons.
GO:0098869	cellular oxidant detoxification	Biological process	Any process carried out at the cellular level that reduces or removes the toxicity superoxide radicals or hydrogen peroxide.
GO:0006804	obsolete peroxidase reaction	Biological process	OBSOLETE (was not defined before being made obsolete).
GO:0006691	leukotriene metabolic process	Biological process	The chemical reactions and pathways involving leukotriene, a pharmacologically active substance derived from a polyunsaturated fatty acid, such as arachidonic acid.

Transcript TR16718\_c0\_g1\_i1 เป็น transcript ในกลุ่มที่ 2/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* จากการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล blastx พบว่าเป็น electron transfer flavo-ubiquinone mitochondrial และถูกจัดระดับตามรูปแบบ gene ontology ในระดับสุดท้ายของ cellular component (level 6) และได้ถูกระบุหน้าที่จากฐานข้อมูล GO ตาม GO ID ไว้ดังตารางที่ 4-5 โดยจากการศึกษาของ Watmough and Frerman. (2010) พบว่า electron transfer flavoprotein : ubiquinone oxidoreductases (ETF-QO) คือส่วนประกอบของ mitochondrial respiratory chain ที่อยู่รวมกันกับ electron transfer flavoprotein (ETF) ซึ่งเป็นเส้นทางการขนถ่าย electron จาก mitochondrial flavoprotein dehydrogenases ทั้ง 11 ชนิดไปยัง ubiquinone pool ซึ่งในการศึกษาโครงสร้างของ enzyme จากตับหมู ทำให้ทราบถึงโครงสร้างของ ETF-QO ที่ถูกเปลี่ยนเป็น monotopic membrane protein โดย FAD และ  $[4Fe-4S]^{+1+2}$  cluster ซึ่ง ETF : ubiquinone oxidoreductases ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการขนถ่าย electron ระหว่าง ETF และ ubiquinone โดยที่อยู่รูปแบบของ short electron transfer pathway เพื่อนำ electron จาก mitochondrial FTA ที่มีองค์ประกอบของ acyl-CoA dehydrogenase ของ กรดไขมัน  $\beta$ -oxidation และ amino acid catabolism ไปสู่ ubiquinone pool ซึ่งอยู่ในกลไกการหายใจระดับเซลล์ ซึ่งมีกลไกการขนส่ง electron ดังภาพที่ 4-2



ภาพที่ 4-2 กลไกการขนส่ง electron ใน short electron transfer pathway เริ่มการขนส่ง electron จาก Octanoyl-CoA ไปสู่ Ubiquinone โดยมีตัวกลางเป็น ETF และ ETF : QO (Watmough and Frerman. 2010)

ตารางที่ 4-5 หน้าที่ของ transcript TR16718\_c0\_g1\_i1 จากฐานข้อมูล GO

ID (Linked to Amigo)	Term	Type	Definition
GO:0031305	integral component of mitochondrial inner membrane	Cellular component	The component of the mitochondrial inner membrane consisting of the gene products having at least some part of their peptide sequence embedded in the hydrophobic region of the membrane.
GO:0004174	electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase activity	Molecular function	Catalysis of the reaction: reduced ETF + ubiquinone = ETF + ubiquinol.
GO:0009055	electron carrier activity	Molecular function	Any molecular entity that serves as an electron acceptor and electron donor in an electron transport chain. An electron transport chain is a process in which a series of electron carriers operate together to transfer electrons from donors to any of several different terminal electron acceptors to generate a transmembrane electrochemical gradient.
GO:0048039	ubiquinone binding	Molecular function	Interacting selectively and non-covalently with ubiquinone, a quinone derivative with a tail of isoprene units.
GO:0051539	4 iron, 4 sulfur cluster binding	Molecular function	Interacting selectively and non-covalently with a 4 iron, 4 sulfur (4Fe-4S) cluster; this cluster consists of four iron atoms, with the inorganic sulfur atoms found between the irons and acting as bridging ligands.
GO:0006979	response to oxidative stress	Biological process	Any process that results in a change in state or activity of a cell or an organism (in terms of movement, secretion, enzyme production, gene expression, etc.) as a result of oxidative stress, a state often resulting from exposure to high levels of reactive oxygen species, e.g. superoxide anions, hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), and hydroxyl radicals.
GO:0022904	respiratory electron transport chain	Biological process	A process in which a series of electron carriers operate together to transfer electrons from donors such as NADH and FADH <sub>2</sub> to any of several different terminal electron acceptors to generate a transmembrane electrochemical gradient.
GO:0033539	fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase	Biological process	A fatty acid beta-oxidation pathway in which the initial step of each oxidation cycle, which converts an acyl-CoA to a trans-2-enoyl-CoA, is catalyzed by acyl-CoA dehydrogenase; the electrons removed by oxidation pass through the respiratory chain to oxygen and leave H <sub>2</sub> O as the product. Fatty acid beta-oxidation begins with the addition of coenzyme A to a fatty acid, and ends when only two or three carbons remain (as acetyl-CoA or propionyl-CoA respectively).
GO:0006118	obsolete electron transport	Biological process	OBSOLETE. The transport of electrons from an electron donor to an electron acceptor.

Transcript TR11263|c0\_g2\_i1 เป็น transcript ในกลุ่มที่ 2/2 มีลักษณะการแสดงออกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* จากการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล blastx พบว่าเป็น CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1 และถูกจัดระดับตามรูปแบบ gene ontology ในระดับสุดท้ายของ biological process (level 9) และ molecular function (level 9) และได้ถูกระบุหน้าที่จากฐานข้อมูล GO ตาม GO ID ไว้ดังตารางที่ 4-6 CCR4-NOT complex มีอยู่หลาย subunit ที่มีบทบาทในเซลล์อยู่หลายหน้าที่ เพื่อการควบคุมระดับการแสดงออกของยีน โดยกระบวนการ ubiquitination และ deadenylation (Collart and Panasenko. 2012) จากการศึกษารายชื่อของ Gavin *et al.*, (2002) สามารถระบุ subunits ของ CCR4-NOT complex จากเซลล์ของมนุษย์ได้ตั้งแต่ CNOT1-CNOT10 การศึกษาของ J.-X. Shi *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษา CNOT7/hCAF1 ในมนุษย์ที่มีความเกี่ยวข้องกับ intercellular adhesion molecule-1 และ interleukin-8 โดย tristetraprolin ซึ่งเป็น RNA-binding protein ที่เปลี่ยนไปเป็น AU-rich elements ที่บริเวณ 3'-untranslated region (3'-UTR) แสดงให้เห็นว่า tristetraprolin จะอยู่ติดกับ AU-rich elements ของ intercellular adhesion molecule-1 และ interleukin-8 mRNAs และยังเป็น coimmunoprecipitated กับ intercellular adhesion molecule-1 และ interleukin-8 mRNAs นอกจากนี้ tristetraprolin, CNOT7 และ CNOT1 ยังเป็น coimmunoprecipitated ใน human pulmonary microvascular endothelial cells

#### ตารางที่ 4-6 หน้าที่ของ transcript TR11263|c0\_g2\_i1 จากฐานข้อมูล GO

ID (Linked to Amigo)	Term	Type	Definition
GO:0003676	nucleic acid binding	Molecular function	Interacting selectively and non-covalently with any nucleic acid.
GO:0004535	poly(A)-specific ribonuclease activity	Molecular function	Catalysis of the exonucleolytic cleavage of poly(A) to 5'-AMP.
GO:0000289	nuclear-transcribed mRNA poly(A) tail shortening	Biological process	Shortening of the poly(A) tail of a nuclear-transcribed mRNA from full length to an oligo(A) length.
GO:0051252	regulation of RNA metabolic process	Biological process	Any process that modulates the frequency, rate or extent of the chemical reactions and pathways involving RNA.



### 4.3 รูปแบบการแสดงออกของ transcripts ในรังไข่ของกิ้งกั๊กแดงหางจุด

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนไวเทลโลเจนิน (Vitellogenin, VTG) ซึ่งรูปแบบการพัฒนารังไข่ของกิ้งกั๊กแดงหางจุดมีความใกล้เคียงกับปูมากกว่าในกุ้ง เนื่องจากลักษณะภายนอกของรังไข่กิ้งกั๊กแดงในช่วงที่มีพัฒนาการของรังไข่จากระยะที่ยังไม่สมบูรณ์เพศจนเป็นระยะสมบูรณ์เพศ จะมีความแตกต่างกันทั้งขนาดและสีตามลำดับการพัฒนา ในระยะแรกรังไข่มีลักษณะเป็นเส้นบางใส ส่วนในรังไข่ระยะที่ 2-5 จะมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดของรังไข่ที่ขยายใหญ่ขึ้น และขยายปกคลุมส่วนของตับ/ตับอ่อนตามระยะการเจริญ จากงานวิจัยนี้พบว่ายีนไวเทลโลเจนินสามารถพบการแสดงออกได้ในรังไข่ของกิ้งกั๊กแดงหางจุด ซึ่งพบโดเมนที่พบบนยีนไวเทลโลเจนินในสิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 4-7 โดยมีผลสอดคล้องกับรชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ (2556) ศึกษากลไกของการผลิตไวเทลโลเจนิน และโปรตีนไวเทลโลเจนิน ของกิ้งกั๊กดำ และกิ้งกั๊กไฟเนยสีอื่น ๆ พบว่ามีการแสดงออกของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ และตับ/ตับอ่อนของกิ้งกั๊กไฟเนยสีหลายชนิด ซึ่งมีความแตกต่างจากครัสเตเชียนชนิดอื่น เช่น ปูและกิ้งกั๊กมังกร ในบริเวณที่มีการผลิตโปรตีนไวเทลโลเจนินจะจำกัดอยู่ที่ตับ/ตับอ่อนเพียงอวัยวะเดียว โดยเส้นทางการลำเลียงโปรตีนไวเทลโลเจนินของกิ้งกั๊กไฟเนยสีที่ผลิตจากเซลล์ตับ/ตับอ่อน ที่ผ่านกระบวนการตกแต่ง 2 ครั้ง และลำเลียงผ่านทางเลือดแล้วจึงส่งไปยังอวัยวะเป้าหมายคือรังไข่ โดยที่บริเวณผนังเซลล์ไข่จะมีตัวรับโปรตีนไวเทลโลเจนินที่มาจากเลือด เพื่อนำเข้าสู่เซลล์ไข่แล้วเปลี่ยนเป็นโปรตีนไวเทลโลเจนินต่อไป และการสร้างไวเทลโลเจนินมีความสัมพันธ์กับการพัฒนารังไข่การแสดงออกของยีนไวเทลโลเจนินในตับและรังไข่อาจมีการควบคุมที่แตกต่างกันในแต่ละเนื้อเยื่อ

Santos and Negreiros-Fransozo (1999) ที่ศึกษาการพัฒนารังไข่ในปูชนิด *Portunus spinimanus* ขณะที่มีการสร้างไข่แดงในกระบวนการสร้างและสะสมไข่แดง (vitellogenesis) ปริมาณของ oocytes ในรังไข่จะเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีของรังไข่ สีของรังไข่เป็นผลจากการสะสมของรงควัตถุจำพวก carotenoid สำหรับการศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) เพื่อจำแนกระยะการพัฒนาของรังไข่ จากผลการศึกษาพบว่าลักษณะภายนอกของรังไข่ปูในช่วงที่มีพัฒนาการของรังไข่จากระยะที่ยังไม่สมบูรณ์เพศจนเป็นระยะสมบูรณ์เพศ จะมีความแตกต่างกันทั้งขนาดและสีตามลำดับการพัฒนา โดยในระยะแรกรังไข่มีลักษณะเป็นเส้นบางใส เนื่องจากยังไม่มีมีการเจริญของ oocyte ภายในรังไข่ ส่วนในรังไข่ระยะที่ 2-5 จะมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดของรังไข่ขยายใหญ่ขึ้น และขยายปกคลุมส่วนของตับอ่อนตามระยะการเจริญ ส่วนสีของรังไข่จะเปลี่ยนจากสีขาวขุ่นในระยะที่ 2 กลายเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลในถัดมาตามลำดับ

พริมา พิริยางกูร (2549) ศึกษาคุณสมบัติของไวเทลโลเจนินในกุ้งแชบ๊วย โดยโปรตีนที่ทำหน้าที่รับโปรตีนไวเทลโลเจนินจากเลือดเข้าสู่เซลล์ไข่ คือโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนิน (vitellogenin receptor) มีรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับไวเทลโลเจนินเป็นครั้งแรกในกิ้งกั๊กดำ โดยพบการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนินที่ระดับต่าง ๆ ในรังไข่ระยะไวเทลโลเจนินกตอนต้น และสูงขึ้นเมื่อรังไข่ของแม่กุ้งมีค่าดัชนีรังไข่เป็น 3-4% ทำให้สามารถสันนิษฐานได้ว่าเป็นช่วง ที่รังไข่มีความต้องการการส่งผ่านโปรตีนไวเทลโลเจนินจากตับ/ตับอ่อนผ่านเลือดเข้าไปในเซลล์ไข่ของกิ้งกั๊กดำโดยอาศัยตัวรับดังกล่าว ซึ่งจากการศึกษาตำแหน่งของโปรตีนตัวรับไวเทลโลเจนินด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) พบว่า

มีการแสดงออกอย่างชัดเจนบริเวณผนังเซลล์ไครระยะไวเทโลเจนิค แสดงให้เห็นว่ากลไกการรับโปรตีนไวเทโลเจนิคที่ผ่านการทำให้เป็นโมเลกุลเล็กแล้วเข้าสู่เซลล์ไซของกึ่งกลาดำนั้นมิโปรตีนตัวรับไวเทโลเจนิคเป็นตัวนำเข้าสู่เซลล์ (Tiu et al., 2008)

Avarre et al. (2003) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนไวเทโลเจนิค และไวเทลลินในกึ่งกลาดำ (*Penaeus semisulcatus*) และลักษณะองค์ประกอบทางโมเลกุลของดีเอ็นเอ พบว่าแหล่งที่มาของโปรตีนไข่แดงในรังไข่กึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องในความสัมพันธ์ของยีนไวเทโลเจนิค (VTG) และไวเทลลิน (VT) จากการเปรียบเทียบปริมาณยีนไวเทโลเจนิค และไวเทลลินในรังไข่ของกึ่ง *Penaeus semisulcatus* พบว่ามียีนไวเทโลเจนิคจากรังไข่ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 7,920 คู่เบส และกรดอะมิโน 2,068 กรดอะมิโน ส่วนยีนไวเทโลเจนิคในตับ/ตับอ่อนมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 7,920 คู่เบส โดยพบว่ายีนไวเทโลเจนิคจากตับคล้ายคลึงกับยีนไวเทโลเจนิคจากรังไข่ ซึ่งผลการตรวจสอบพบว่ายีนไวเทโลเจนิคพบเฉพาะในรังไข่และตับ/ตับอ่อนของเพศเมียถึงแม้ว่ายีนไวเทโลเจนิคจะถูกพบในเพศผู้ประมาณ 7.8 กิโลเบส โดยรูปแบบการแสดงออกของยีนไวเทโลเจนิคจะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนของการพัฒนารังไข่ และวงจรการลอกคราบ

Tsutsui et al. (2000) ศึกษาลักษณะโมเลกุลของยีนไวเทโลเจนิค และการแสดงออกในรังไข่และตับ/ตับอ่อน ในช่วงกระบวนการไวเทโลเจเนซิสในกึ่ง Kuruma Prawn (*Penaeus japonicas*) พบว่าในครีซเตเซียนมีการสืบพันธุ์และกลไกการควบคุมกระบวนการไวเทโลเจเนซิส โดยในเลือดของครีซเตเซียนจะพบโปรตีนไข่แดง และไวเทลลิน เช่นเดียวกับการแสดงออกของยีนไวเทโลเจนิค โดยยีนไวเทโลเจนิคสามารถแสดงออกได้ทั้งในรังไข่ และเซลล์ตับ/ตับอ่อนของกึ่ง Kuruma Prawn (*Penaeus japonicas*) เพศเมียในระยะไวเทโลเจนิคตอนต้นและสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะการพัฒนารังไข่สูงขึ้น

Tiu et al. (2006) ศึกษาแบบการผลิตไวเทโลเจนิค (*PmVg1*) ในตับ/ตับอ่อน และรังไข่ของกึ่งกลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยรูปแบบของยีนไวเทโลเจนิคมีคล้ายกับ *MeVg1* จาก *M. ensis* ซึ่งยีนไวเทโลเจนิคของกึ่งกลาดำ (*PmVg1*) ประกอบด้วย 14 introns และ 15 exons โดยยีน *PmVg* มีขนาด 7.8 กิโลเบส และสารตั้งต้นส่วนใหญ่คล้ายกับยีนไวเทโลเจนิค ของกึ่ง *Penaeus merguensis* (identity 86%) ซึ่งรังไข่มีบทบาทสำคัญในการมียีน *PmVg1* ในช่วง ไวเทโลเจเนซิสตอนต้น (GSI <3%) พบการแสดงออกของ *PmVg1* ในรังไข่ และตับ/ตับอ่อนอยู่ในระดับต่ำ ส่วนการแสดงออกถึงระดับสูงสุดในกึ่งที่มี GSI 4-8% และ GSI > 9% โดยกรด Farnesic และ 20-hydroecdysone สามารถทำให้เกิดการกระตุ้นให้ตับ/ตับอ่อนมีการแสดงออกของ *PmVg1* อย่างมีนัยสำคัญในหลอดทดลอง

Treerattrakool et al. (2008) ศึกษาการยับยั้งการทำงานของยีน Pem-GIH ในกึ่งกลาดำโดยใช้เทคนิค double stranded RNA (dsRNA) พบว่า GIH-dsRNA ส่งผลให้ระดับการแสดงออกของยีน Pem-GIH ในกลุ่มเซลล์ประสาทบริเวณก้านตา (eyestalk ganglia) และแนวเส้นประสาทตรงส่วนท้อง (abdominal nerve cord) ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำลดลง แต่ระดับการแสดงออกของยีนที่ผลิตไวเทโลเจนิคในรังไข่มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อยีน Pem-GIH ถูกยับยั้งการทำงานด้วย GIH-dsRNA แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนที่หลั่งมาจากต่อมไร้ท่อ (X-organ/sinus gland complex; XO-SG) ที่บริเวณก้านตากึ่งมีความสำคัญในการควบคุมกระบวนการไวเทโลเจเนซิสในกึ่งกลาดำ

ตารางที่ 4-7 ผลโดเมนที่พบบนยีนไวเทลโลเจนินในสิ่งมีชีวิตที่ใกล้เคียงกัน

Description	Domain (E-value)			Accession number
	LPD_N	DUF1943	VWD	
<i>Vitellogenin [Harpiosquilla raphidea]</i>	1.07e-09	2.25e-51	0.00141	-
<i>Vitellogenin [Oratosquilla oratoria]</i>	2.23e -09	2.51e -49	0.000727	ALI 16501.1
<i>Vitellogenin [Portunus trituberculatus]</i>	6.41e -10	2.19e -40	3.45e -08	AAX 94762.1
<i>Vitellogenin [Scylla paramamosain]</i>	7.43e -10	9.60e -37	7.73e -11	ACO 36035.1
<i>Vitellogenin [Callinectes sapidus]</i>	7.36e -11	1.06e -38	9.52e -11	AFI 59132.1
<i>Vitellogenin [Fenneropenaeus chinensis]</i>	1.51e -09	2.84e -39	0.000653	ABC 86571.1
<i>Vitellogenin [Marsupenaeus japonicus]</i>	1.65e -10	8.41e -42	0.00316	BAD 98732.1
<i>Vitellogenin [Palaemon carinicauda]</i>	4.49e -10	9.66e -42	0.00000411	AFM 82474.1
<i>Vitellogenin [Macrobrachium rosenbergii]</i>	1.18e -10	4.23e -47	7.04e -11	BAB 69831.1
<i>Vitellogenin [Pandalus hypsinotus]</i>	4.23e -10	1.38e -51	1.00e -09	BAD 11098.1
<i>Vitellogenin [Pandalopsis japonica]</i>	2.03e -09	9.27e -47	1.66e -10	AHD 26978.1

ฮอร์โมน Estrogen related receptor proteins (ERRs) และ ecdysone receptors ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจัดอยู่ในกลุ่ม nuclear receptor superfamily (He et al., 2010) จากรายงานการวิจัยในสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้มีอยู่ไม่มากนัก sex steroid (estrogens, androgens และ progestins) จะจับกับโปรตีนตัวรับ (sex steroid receptors, receptor-like proteins หรือ membrane receptors) เพื่อกระตุ้นการพัฒนาาระบบสืบพันธุ์ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

จากงานวิจัยของ ณัฐณี จินาวัดน์ และภูมิ สุขธิติพัฒน์ (2556) ได้ใช้เทคโนโลยีเอ็นจีเอส (Next Generation Sequencing) ในการวินิจฉัยรักษาและวิจัยโรคมะเร็ง ซึ่งในการวิจัยได้ใช้เทคโนโลยีเอ็นจีเอสในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับฮอร์โมน (*Hormone receptor gene*) ในรังไข่ของกิ้งก่าเตนหางจุดซึ่งประสบความสำเร็จในงานวิจัยนี้ ซึ่งเอสโตรเจน (estrogene) เป็นฮอร์โมนเพศและเป็นกลุ่มฮอร์โมนสเตียรอยด์ โดยจะทำงานแพร่เข้าสู่เซลล์โดยแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นมี ตัวรับสัญญาณ สเตียรอยด์ฮอร์โมนมีทั้งในไซโตพลาซึมและในนิวเคลียส ที่ทำให้ฮอร์โมนจับกับตัวรับสัญญาณฮอร์โมน ฮอร์โมนจับกับตัวรับสัญญาณและดีเอ็นเอ กระตุ้นให้ยีนจำเพาะในดีเอ็นเอถอดรหัสสร้างเอ็มอาร์เอ็นเอซึ่ง เอ็มอาร์เอ็นเอ เป็นแม่แบบในการสร้างโปรตีน

Zhang et al. (2012) ได้ศึกษายีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในหอยเชลล์ *Chlamys farreri* ต่อการแสดงออกในการตอบสนองของต่อมไร้ท่อที่ถูกทำลายด้วยสารเคมี ในกลไกของการส่งสัญญาณฮอร์โมนเพศ (sex steroid) ในมอลลัส โดย full-length cDNA ของ estrogen receptor (ER) จาก *C. farreri* ตำแหน่ง cysteinene ซึ่งเป็นสารตกค้าง และสารตกค้างอื่นๆ ประกอบด้วยลักษณะเด่นของ Zinc สองตัว, P-box และส่วนอนุรักษ์ สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแสดงให้เห็นว่า Cfer เป็นกลุ่มของสายลำดับเบสจากสิ่งมีชีวิตคนละ

ชนิดที่มีความคล้ายคลึงกัน (ortholog) ของ ERs ในมอลลัสอื่น ๆ ในกระบวนการ Tissue distribution ของ CfER mRNA มีการแสดงออกของ ER mRNA ในเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันและสูงสุดในอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้ และเพศเมีย ในการศึกษาต่อมไร้ท่อของ *C. farreri* ที่ถูกทำลายด้วยสารเคมีเป็นเวลา 10 วันซึ่งประกอบด้วย Benzo(a)pyrene (B(a)p) และ polybrominated diphenyl ethers (BDE-47) ซึ่ง B(a)p ถูกให้ที่ 0.4 และ 2  $\mu\text{g/L}$  ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในการแสดงออกของ mRNA ของ CfER และ VTG แต่ B(a)p ที่ 10  $\mu\text{g/L}$  ทำให้การแสดงออกของ CfER และ VTG mRNA ลดลงเมื่อเทียบกับตัวควบคุม การเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นของ CfER และ VTG mRNA transcripts เป็นผลของ BDE-47 ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10  $\mu\text{g/L}$  จากผลการศึกษาสามารถอธิบายบทบาทหน้าที่ของ CfER ที่เกิดจากสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (xenobiotics) ใน *C. farreri* ได้และมีประโยชน์ในการตรวจสอบกลไกของการส่งสัญญาณฮอร์โมนเพศในหอยสองฝา ในยีน ER ได้รับการโคลนและประสบความสำเร็จในมอลลัส ได้แก่ ทากเปลือก *Aplysia californica* (Thornton et al., 2003), หอยฝาเดียว *Thais clavigera* (Kajiwara et al., 2006), หอยปากกระจาด *Nucella lapillus* (Castro et al., 2007), หอยสองฝา *M. edulis* (Puinean et al., 2006) และ หอยทาก *Marisa cornuarietis* (Bannister et al., 2007)

Yang et al. (2012) ได้ศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนอัลฟา ( $\text{ER}\alpha$ ) ในระหว่างการพัฒนา oocytes และ follicle cells ของ *Neomysis japonica* จากการศึกษาพบว่าเอสโตรเจนทำให้เกิดการพัฒนาเซลล์ไข่และไวเทลโลจีนินในครัสเตเชียน โดยมีปฏิกริยาสัมพันธ์กับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ( $\text{ER}$ ) ชนิดย่อย ซึ่งพบ  $\text{ER}\alpha$  ครั้งแรกใน oocytes และ follicle cells และเซลล์ตับของไมซิส (mysis) โดยใช้ immunohistochemistry ที่จำเพาะเจาะจงของ  $\text{ER}\alpha$  antibody ซึ่ง  $\text{ER}\alpha$  จะจำเพาะในนิวเคลียสของ oocytes และ follicle cells และส่วนมากจะพบในนิวเคลียสของ oogonia (OG), previtellogenic oocyte (PR) และ endogenous vitellogenic oocyte (EN) ที่ previtellogenic และ early vitellogenic stage (I-early III) ใน follicle cells ในระยะของรังไข่ (all vitellogenic stage) แสดงให้เห็นถึงปฏิกริยาเพิ่มขึ้นของ  $\text{ER}\alpha$  และเคลื่อนย้ายไปยังเซลล์ไข่ในระหว่างการพัฒนาเซลล์ไข่  $\text{ER}\alpha$  เป็นตัวบอกตำแหน่งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับและตับอ่อนทั้ง 4 เซลล์ (E-, R-, F- และ B-cell) ในทุกระยะของรังไข่ การศึกษาในครั้งนี้คาดว่าอาจจะมีการเชื่อมโยงอย่างใกล้ชิดระหว่าง oogenesis, follicle cell, hepatopencreas cells ในการควบคุมต่อมไร้ท่อ และเอสโตรเจนน่ามีส่วนร่วมในการควบคุมการพัฒนาของไข่ในการพัฒนารังไข่ในช่วงต้นของไมซิส (mysis)

เอสโตรเจนถูกพบในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ ได้แก่ หอย *Ilyanassa obsoleta* (Sternberg et al., 2008), หอยนางรม *Crassostrea gigas* (Matsumoto et al., 2007), ปูทะเล *Scylla serrata* (Warrier et al., 2001), กุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (Ghosh and Ray, 1993) และ หอยแมลงภู่ *Mytilus edulis* (Zhu et al., 2003) จากงานวิจัยของ Nagasawa et al. (2015) ได้ศึกษา ลักษณะโมเลกุลของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen receptor) และตัวรับที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen-related receptor) และความสามารถในการควบคุมของหอยแมลงภู่สองชนิด ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการโคลนยีนสองรูปแบบใหม่จาก estrogen receptor-like gene ตัวรับฮอร์โมนนี้มีความเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับ *M. edulis* และ *M. galloprovincialis* โดยสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแสดงให้เห็นว่าตัวรับฮอร์โมนเหล่านี้เป็น estrogen receptor (ER) และ estrogen-related receptor (ERR) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวรับ mRNA ทั้งคู่มีความจำเพาะใน oocytes และ follicle cells ในระหว่างการพัฒนา oocytes ใน ovary และ Sertoli cell ในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (testis) และใน ciliated

cell ของเหงือก นอกจากนี้ ER อาจจะสามารถควบคุมการแสดงออกใน gonadal cell โดย estrogen ( $E_2$ ) และยีนนี้ยังตอบสนองต่อสารประกอบ estrogenic ด้วย

#### 4.3.1 การทำงานของโดเมน ZnF\_C4 และโดเมน HOLI

ในการศึกษายีนตัวรับฮอร์โมน (*Hormone receptor gene*) พบว่าโดเมนที่พบส่วนใหญ่คือโดเมน ZnF\_C4 และโดเมน HOLI สเตียรอยด์ หรือตัวรับฮอร์โมนนิวเคลียร์ ประกอบด้วย superfamily ที่สำคัญของการควบคุมการถอดรหัสที่มีส่วนร่วมในการทำงานทางสรีรวิทยาที่มีความหลากหลายอย่างกว้างขวาง รวมถึงการควบคุมของการพัฒนาตัวอ่อน การเปลี่ยนแปลงของเซลล์และสภาวะสมดุล การทำงานของตัวรับ เช่น การรวมตัวของกันของโมเลกุลคู่ในนิวเคลียสในการควบคุมการถอดรหัสของยีนเป้าหมายในลักษณะ ligand-responsive ตัวรับฮอร์โมนนิวเคลียร์ประกอบด้วย DNA-binding domain ที่เป็นส่วนอนุรักษ์อย่างมากที่เป็นลำดับนิวไคลโอไทด์ที่เฉพาะเจาะจง มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องโดยตรงกับตำแหน่ง C-terminal ligand-binding domain นอกจากนี้ตัวรับฮอร์โมนนิวเคลียร์บางตัวมี N-terminal modulatory domain

#### 4.3.2 การทำงานของโดเมน ZnF\_C4

DNA-binding domain สามารถทั้งกระตุ้นหรือระงับผล โดยมีการผูกพันที่เฉพาะเจาะจงของดีเอ็นเอที่เป็นองค์ประกอบของฮอร์โมนในการตอบสนอง (Moehren et. Al., 2004), (Claessens and Gewirth, 2004) องค์ประกอบเหล่านี้ตอบสนองตำแหน่งตัวรับและได้คัดเลือก complexes ใกล้กับยีนที่ถอดรหัสได้รับผลกระทบ DNA-binding domain ของตัวรับฮอร์โมนนิวเคลียร์ประกอบด้วยโมดูล zinc-nucleated 2 ตัว และ C-terminal extension ในโมดูล zinc ตัวแรกจะเป็นตัวกำหนดที่จำเพาะของดีเอ็นเอและในโมดูล zinc ตัวที่สองมีส่วนร่วมใน dimerization DNA-binding domain ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในฟังก์ชันอื่น ๆ นอกจากนี้รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงนิวเคลียร์และปฏิกริยากับปัจจัยการถอดรหัสและการการกระตุ้นร่วมกัน (Claessens and Gewirth, 2004)

#### 4.3.3 การทำงานของโดเมน HOLI

Ligand-binding domain ทำหน้าที่ในการตอบสนองต่อ ligand binding ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างตัวรับเพื่อก่อให้เกิดการตอบสนองจึงทำหน้าที่เป็นสวิตช์ระดับโมเลกุลเพื่อเปิดกิจกรรมการถอดรหัส (Edwards, 2000) ตัวอย่างเช่น หลังจากที่มีการ binding ของตัวรับ glucocorticoid ไปยัง corticosteroid ligand, ตัวรับจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการปฏิบัติหน้าที่สร้าง nuclear translocation, oligomerisation, cofactor/kinase/transcription factor association และ DNA binding (Bledsoe et. Al., 2004) ligand-binding domain เป็นหน่วยที่มีความยืดหยุ่นเกิดจากการจับของ ligand ทำให้เกิดโครงสร้าง ซึ่งในทางกลับกัน coactivator binding จะเปลี่ยนให้ตัวรับทำงาน (Tamrazi, 2005) ซึ่ง coactivator สามารถผูกกับ activator function 2 (AF2) ที่ปลาย C-terminal และ ligand-binding domain (Kong et al., 2005) การจับกันของ ligands ที่แตกต่างกันสามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ ligand-binding domain ซึ่งในที่สุดจะส่งผลกระทบต่อความจำเพาะต่อ DNA binding ของ DNA binding domain

#### 4. 4 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนโดยใช้เทคโนโลยี NGS และเทคโนโลยีชีวสารสนเทศในการศึกษา โดยสามารถใช้ R studio ในการวิเคราะห์รูปแบบการแสดงออกที่แตกต่างของ transcripts จาก 28,323 transcripts เป็น 214 transcripts แบ่งเป็น 4 กลุ่ม และพัฒนา Graphic User Interface (GUI) ในการช่วยให้สามารถเลือก transcripts ในแต่ละกลุ่มจากข้อมูล transcripts ทั้งหมด 93,344 sequences และสามารถนำไปวิเคราะห์หน้าที่ของยีนในกลุ่มที่ 1/1 ทั้งหมด 18 transcripts blastx ได้ทั้งหมด 9 transcripts สามารถระบุหน้าที่ได้ 5 transcripts ในกลุ่มที่ 1/2 ทั้งหมด 34 transcripts blastx ได้ทั้งหมด 9 transcripts สามารถระบุหน้าที่ได้ 8 transcripts สามารถระบุ pathway ได้ 2 pathway ในกลุ่มที่ 2/1 ทั้งหมด 135 transcripts blastx ได้ทั้งหมด 34 transcripts สามารถระบุหน้าที่ได้ 13 transcripts สามารถระบุ pathway ได้ 2 pathway ในกลุ่มที่ 1/2 ทั้งหมด 32 transcripts blastx ได้ทั้งหมด 16 transcripts สามารถระบุหน้าที่ได้ 8 transcripts โดยยีนที่พบนั้นมีเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน, metabolism process, กระบวนการหายใจระดับเซลล์ และ กลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนอื่นๆ ซึ่งตอบสนองต่อภาวะการติดเชื้อ *Vibrio parahemolyticus* และสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาด้าน genomic ในกั้งตั๊กแตนหางจุดในอนาคต

ตารางที่ 4-8 สรุปจำนวน transcripts ภายหลังจากการดำเนินการในแต่ละขั้นตอน

Clusters	Total (transcripts)	Blast x (transcripts)	Unknown / <i>De novo</i> (transcripts)	Annotated (transcripts)	Pathway (transcripts)
Cluster 1/1	18	9	4	5	-
Cluster 1/2	34	9	1	8	2
Cluster 2/1	135	34	21	13	2
Cluster 2/2	32	16	8	8	-
Total	219	68	34	34	4

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์เต็มยีนของยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนารังไข่โดยใช้เทคโนโลยี NGS พบยีนไวเทลโลเจนินมีขนาดลำดับนิวคลีโอไทด์ 7,455 คู่เบส แพลรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 2,485 กรดอะมิโน มีด้านของ 5'UTR 24 คู่เบส และ 3'UTR 128 คู่เบส โดยพบตำแหน่ง cysteine (c) ทั้งหมด 12 ตำแหน่ง เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน ไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกิ้งกั๊กเตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับ *Oratosquilla oratoria* มากที่สุดที่ 100% โดยมีระยะห่างความสัมพันธ์ของกลุ่มกิ้งกั๊กเตนเป็น 0.62 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ในกลุ่มครัสเตเชียน โดยมีปลาหมักลาย (*Danio rerio*) เป็นตัวเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของสัตว์กลุ่มอื่นนอกเหนือจากกลุ่มครัสเตเชียน

พบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (NGS: 6598) ในกิ้งกั๊กเตนหางจุด จำนวน 2,715 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 905 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,386 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 462 ตัว โดยยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนพบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.51e-39$  และโดเมน HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $1.2e-24$  โดยมีความคล้ายกับยีน Estrogen-related receptor ในปูขาว *Scylla paramamosain* มากที่สุด มีค่า E-value เท่ากับ 0.0 และมีค่า Identities เท่ากับ 76% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกิ้งกั๊กเตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับปูม้า *Portunus trituberculatus* และปูขาว *Scylla paramamosain* มากที่สุดที่ 100%

พบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like (NGS: 20511) ในรังไข่ของกิ้งกั๊กเตนหางจุดจำนวน 2,039 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 697 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,428 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 476 ตัว โดยยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $3.93e-38$  และ โดเมน HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $7.18e-46$  โดยมีความคล้ายกับยีน PREDICTED: hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในหนอน *Saccoglossus kowalevskii* มากที่สุด มีค่า E value เท่ากับ  $1e-157$  และมีค่า Identities เท่ากับ 72% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน hepatocyte nuclear factor 4-alpha-like ในกิ้งกั๊กเตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับหนอน *Saccoglossus kowalevskii* และหอยนางรม *Crassostrea gigas* มากที่สุดที่ 96 %

พบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของ putative nuclear hormone receptor HR38 (NGS: 56829) ในรังไข่ของกิ้งกั๊กเตนหางจุดจำนวน 2,351 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 783 ตัว มีส่วนที่เป็น Open reading frame มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 2,256 คู่เบส และมีลำดับกรดอะมิโน 752 ตัว โดยยีน putative nuclear hormone receptor HR38 พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $4.57e-39$  และโดเมน HOLI มีค่า E-value เท่ากับ  $3.04e-26$  โดยมีความคล้ายกับยีน putative nuclear hormone receptor HR38 ในปลวก *Zootermopsis nevadensis* มากที่สุด มีค่า E-value เท่ากับ  $4e-167$  และมีค่า Identities เท่ากับ 81% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน putative nuclear

hormone receptor HR38 ในกิ้งต๊กแตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับมดกระโดดอินเดีย *Harpegnathos saltator* และตัวต่อไม้กาฝาก *Orussus abietinus* มากที่สุดที่ 100%

พบลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน retinoid-X receptor 2 (NGS: 21609) ในรังไข่ของกิ้งต๊กแตนหางจุดจำนวน 1,169 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 389 ตัว โดยยีน retinoid-X receptor 2 พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.19e-37$  และโดเมน HOL1 มีค่า E-value เท่ากับ  $2.07e-28$  โดยมีความคล้ายกับยีน retinoid-X receptor 2 ในปูม้า *Portunus trituberculatus* มากที่สุด มีค่า E value เท่ากับ  $4e-155$  และมีค่า Identities เท่ากับ 72% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน retinoid-X receptor 2 ในกิ้งต๊กแตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* และกุ้งแชบ๊วย *Fenneropenaeus chinensis* มากที่สุดที่ 100 %

พบลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน ecdysone receptor (NGS: 38631) ในรังไข่ของกิ้งต๊กแตนหางจุดจำนวน 724 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 241 ตัว โดยยีน ecdysone receptor มีพบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $1.31e-39$  และโดเมน Pfam:Hormone\_recep มีค่า E-value เท่ากับ 0.000003 โดยมีความคล้ายกับยีน ecdysone receptor ในกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* มากที่สุด มีค่า E-value เท่ากับ  $2e-117$  และมีค่า Identities เท่ากับ 71% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน ecdysone receptor ในกิ้งต๊กแตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับปู *Callinectes sapidus*, ปูม้า *Portunus trituberculatus* และปูก้ามดาบ *Uca pugilator* มากที่สุดที่ 100%

พบลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like (NGS: 47812) ในรังไข่ของกิ้งต๊กแตนหางจุดจำนวน 363 bp และมีลำดับกรดอะมิโน 121 ตัว โดยยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like พบโดเมน ZnF\_C4 มีค่า E-value เท่ากับ  $8.14e-36$  โดยมีความคล้ายกับยีน PREDICTED: nuclear receptor superfamily 2 group F member 1-A-like ในแมงดาแอตแลนติก *Limulus polyphemus* มากที่สุด มีค่า E-value เท่ากับ  $5e-62$  และมีค่า Identities เท่ากับ 84% เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับกรดอะมิโนของยีน nuclear receptor subfamily 2 group F member 1-A-like ในกิ้งต๊กแตนหางจุด พบว่ามีความสัมพันธ์กับแมงดาแอตแลนติก *Limulus polyphemus* มากที่สุด 96%



## บทที่ 5

### ผลผลิต

#### 5.1 ผลกระทบด้านต่างๆ

##### 5.1.1 ผลกระทบเชิงเศรษฐศาสตร์/ พาณิชย

ในสภาวะปัจจุบันมีความนิยมในการบริโภคกิ้งต๊กแทนเป็นอาหาร โดยกิ้งต๊กแทนหางจุด (*Harpiosquilla raphidea*) นับเป็นกิ้งต๊กแทนเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้น แต่การเพาะเลี้ยงกิ้งต๊กแทนยังไม่ประสบความสำเร็จในเชิงพาณิชย์ เนื่องจากการขาดความเข้าใจในชีววิทยาของกิ้งต๊กแทนทั้งในส่วนของ การต้านทานโรคและการสืบพันธุ์ ดังนั้นการทราบถึงลำดับของยีนที่เกี่ยวข้องเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การเข้าใจชีววิทยาของกิ้งต๊กแทนมีเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเชื้อและการพัฒนารังไข่ของกิ้งต๊กแทนหางจุด ซึ่งยังไม่มีรายงานมาก่อน

##### 5.1.2 ผลกระทบเชิงสังคม/ สิ่งแวดล้อม

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการเลี้ยงกิ้งต๊กแทนหางจุดในเชิงพาณิชย์ รวมถึงการอนุรักษ์ประชากรกิ้งต๊กแทนในธรรมชาติในอนาคต

##### 5.1.3 ผลกระทบเชิงวิชาการ/ วิทยาศาสตร์

- มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับ transcriptome profiles, ยีน, โปรตีน ที่พบในกิ้งต๊กแทนหางจุดเพิ่มมากขึ้น
- สามารถระบุถึงยีนที่มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันของกิ้งต๊กแทนหางจุด
- สามารถจำแนกยีนที่มีการแสดงออกต่างกันในระยะไข่และเลือดของกิ้งต๊กแทนหางจุดได้

#### 5.2 การนำเสนอผลงานและตีพิมพ์ผลงานในวารสาร

นำเสนอผลงาน ใน การประชุมวิชาการ The 29<sup>th</sup> Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference ในวันที่ 23 – 25 พฤศจิกายน 2560 ณ กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

ตีพิมพ์ผลงานใน Sodsee, N., Wongphayak, S., Kondo, H., Hirono, I., and Hiransuchalert, R. (2018). A preliminary study on differential gene expression in hemocyte of the mantis shrimp *Harpiosquilla raphidea* by next generation sequencing technique. The Journal of Applied Science. 17(Special issue): 27-36.



The Journal of Applied Science  
วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์  
ISSN 1513-7805 (Printed in Thailand)

Vol. 17 Special issue: 27-36 [2018]  
doi: 10.14416/j.appsci.2018.02.S04  
ISSN 2586-9663 (Online)

## Research Article

# A preliminary study on differential gene expression in hemocyte of the mantis shrimp *Harpiosquilla raphidea* by next generation sequencing technique

Naiyasit Sodsee<sup>1</sup>, Sarawut Wongphayak<sup>2</sup>, Hidehiro Kondo<sup>3</sup>, Ikuo Hirono<sup>3</sup> and Rachanimuk Hiransuchaler<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus, Chanthaburi 22170, Thailand

<sup>2</sup>Vishuo Biomedical (Thailand) Ltd. 17th Floor Alma Link Building, Bangkok 10330 Thailand

<sup>3</sup>Laboratory of Genome Science, Tokyo University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan

\*E-mail: rachanimuk@buu.ac.th

## Abstract

This study aims to determine gene expression profiling in hemocyte of *Harpiosquilla raphidea* by using bioinformatics technology and Next Generation Sequencing (NGS) technique. The *De novo* RNA-sequencing was performed using Illumina HiSeq2000. In total, 93,344 assembly consensus sequences were identified by using Trinity software. These 93,344 transcripts were estimated the expression level of each transcript in the hemocyte of *H. raphidea* (both infected by *Vibrio parahaemolyticus* for 24 hours and normal condition) in terms of FPKM (Fragments Per Kilobase of target transcript length per Million reads mapped). The 219 differential expression of transcripts were classified into 4 clusters, i.e., down regulated expression levels (cluster 1/1 and 2/1) and up regulated expression levels (cluster 1/2 and 2/2). Clusters were further functional and annotation analyzed by using Blast2GO software. The important genes that relevant in the immune system of *H. raphidea* were found this study. These included histone H1-delta-like, Cyclooxygenases, 5-aminolevulinic erythroid-mitochondrial, electron transfer flavo-ubiquinone mitochondrial and CCR4-NOT transcription complex subunit 7 isoform X1 gene. The basic information related to these immune genes in *H. raphidea* was investigated in this study and will be the guidance for further studies on the important process in the immune system of *H. raphidea* and for its commercial culture in the future.

**Keywords:** *Harpiosquilla raphidea*, NGS, RNA-seq, *de novo*, transcriptome assembly

## Introduction

Recently, mantis shrimps are popular for food consumption especially in Asia. *Harpiosquilla raphidea* is one of the commercial mantis shrimp species. *H. raphidea* become more desirable food for customers (Tangkrock-olan & Ruksar, 2012), however, most of *H. raphidea* is not come from aquaculture. These affect natural populations of *H. raphidea* because of the over fishing and ore potential fishing gear were used.

## บรรณานุกรม

- กุลขนา เกศสุวรรณ. (2557). การวิเคราะห์ข้อมูลการถอดรหัส ที่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันในช่อดอกจาก จีโนมข้าวลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่. *สัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง ประจำปี 2557*. 68-82.
- กรมประมง. 2551. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2556. เอกสารฉบับที่ 7/2558. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 87 หน้า.
- กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ, มาริสา รักสุขสมบัติ และสุภาพรณ์ ขานโบ. (2558). เทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับเบส ยุคที่สองและสาม. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 23, 633-650.
- บังอร ศรีมุกดา และสรณัญช์ จำปาศรี. (2537). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการเพาะและอนุบาลกั้งตักแตน *Harpiosquilla raphidea* (Fabricius, 1798). ในเอกสารวิชาการ 12/2537, ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจันทบุรี. 453-459. กรุงเทพฯ: กรมประมง.
- ณัฐนิ จินาววัฒน์ และภูมิ สุชาติพัฒน์. (2556). การใช้เทคโนโลยี Next Generation Sequencing ในการวินิจฉัยรักษาและวิจัยโรคมะเร็ง. *Thai Journal of Genetics*, 1, 62-65.
- ณัฐธารณณ์ ชวีณเมือง. (2555). การจำแนกลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและการแสดงออกของยีนไวเทลโลเจนินในรังไข่ของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- นงนุช ตั้งเกริกโอฬา. (2550). *ชีววิทยาของครัสเตเชียน*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงนุช ตั้งเกริกโอฬา และพิชญนันท์ รักษา. (2555). ผลของความเค็มต่อค่าออสโมลาลิตีของเลือดกั้งตักแตน *Miyakea nepa*. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 17. 50-58.
- บพิท จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์. (2546). *สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง II แอนเนลิดาถึงโพรโทคอร์ดาตา*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บังอร ศรีมุกดา และสรณัญช์ จำปาศรี. (2537). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการเพาะและอนุบาลกั้งตักแตน *Harpiosquilla raphidea* (Fabricius, 1798). ในเอกสารวิชาการ 12/2537, ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจันทบุรี. 453-459. กรุงเทพฯ: กรมประมง.
- ปราณี อ่อนแก้ว., วีระ เจริญพิภตร., ศราวุธ สังข์แก้ว., และอดิเทพ บุญเจริญ (2558). การอนุบาลกั้งตักแตนทางจุด *Harpiosquilla raphidea* (Fabricius, 1798). กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- พรงาม ลีตระกูล. (2545). ชีวเคมีของกรดนิวคลีอิกและโปรตีน. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พริมา พิธิยางกูร. (2549). *การโคลนและศึกษาสมบัติของ cDNA ของไวเทลลินในกุ้งแชบ๊วย*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาชีวเคมี, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ. (2556). ไวเทลโลเจนิน: กระบวนการสร้างไข่แดงของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). *แก่นเกษตร*, 41(2), 281-297.
- วีรภัทร บุกบุญ. (2554). *การศึกษาชีววิทยาบางประการของกั้งตักแตนสามแถบ (Oratosquilla nepa) บริเวณท่าเทียบเรือประมงเกาะเปริด อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม. (2552). *พันธุวิศวกรรม: วิธีการและการประยุกต์ใช้*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย และสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2548). *สาระน่ารู้พันธุศาสตร์ = Essential molecular genetics*. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: เท็กซ์แอนด์เจอร์นัล.
- สาธิต โกวิทวที. (2537). *การศึกษานุกรมวิธานของกั้งตักแตน บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักบริการคอมพิวเตอร์. (2550). *กั้งตักแตน*. วันที่ค้นข้อมูล 18 เมษายน 2558. เข้าถึงได้จาก <http://www.ku.ac.th/e-magazine/jan50/agri/lobster.htm>

- สิรินันท์ ชำนาญชล. (2555). การจำแนกชนิด และสกุลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินน้ำเค็มโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนไฟโคไซยานินและส่วนของ *International Transcribed Spacer (ITS)*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุพัฒน์ กำลิ่งเกื้อ ปราณี่ อ่อนแก้ว และอดิเทพ บุญเจริญ. (2555). การอนุบาลกั้งตักแดนหางจุด *Harpisquilla raphidea* (Fabricius, 1798) โดยใช้วิธีการต่างกัน. ใน *เอกสารวิชาการ 38/2555. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสงขลา*, 1-26. กรุงเทพฯ: กรมประมง.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2543). *พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น*. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อดิสรณ์ มนต์วิเศษ. (2541). *การพัฒนาของกั้งตักแดน Oratosquilla nepa (Latreille, 1825) วัยอ่อนจากไข่ของแม่พันธุ์ที่กระตุ้นการวางไข่โดยวิธีทำลายก้านตา*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาสัตววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อลิษา วิรัตน์โอรนุช ประดิษฐ์ทรัพย์ วรณวิสาข์ เจริญฉิม ศุภศักดิ์ กุลวงค์อนันชัย อนันต์ชัย อัครเมธิน และศิษฏศ ทองสีมา. (2554). เทคโนโลยีเอ็นจีเอสและการประยุกต์ในงานวิจัยโอมิกส์. *วารสารวิทยาศาสตร์*. สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย, 104-129.
- วีรภัทร บุบุญญ. (2554). *การศึกษาชีววิทยาบางประการของกั้งตักแดนสามแถบ (Oratosquilla nepa) บริเวณท่าเทียบเรือประมงเกาะเปริด อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สรามิสร อุไรวรรณ. 2522. การศึกษาชีววิทยาของกั้งตักแดน 3 ชนิดในอ่าวไทย. รายงานวิชาการฉบับที่ 18/2522. งานสัตว์น้ำอื่นๆ กองประมงทะเล. 36 หน้า
- สาธิต โกวิทวที และ นฤมล เดชะประเสริฐ. (2538). *การเปรียบเทียบวิธีการทำลายก้านตาเพื่อเร่งการวางไข่ของกั้งตักแดน Oratosquilla nepa (Latreille, 1825)*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. ทบวงมหาวิทยาลัย.
- สายลม เกิดประเสริฐ, ภิญญา พานิชพันธ์., พิณทิพ รื่นวงษา, และ เจริญศรี ธนบุญสมบัติ. (2558). สำนวนโรคอโรมัน. วันที่ค้นข้อมูล 1 พฤษภาคม 2558 เข้าถึงได้จาก <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/hormone/chapter1/chapter1.7.htm>
- หัททยา กาวังศ์. (2549). *อณูพันธุศาสตร์ (Molecular genetics)* (พิมพ์ครั้งที่ 2). เชียงใหม่ : บุญไชยการพิมพ์.
- Anderson, M.W. and Schrijver, I. (2010). Next generation DNA sequencing and the future of Genomic Medicine. *Genes*. 1, 38–69.
- Ansorge, W.J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *Nat Biotechnol*. 25, 195–203
- Avarre, J.C., Michelis, R., Tietz, A. and Lubzens, E. (2003). Relationship between vitellogenin and vitellin in a marine shrimp (*Penaeus semisulcatus*) and molecular characterization of vitellogenin complimentary DNAs. *Biology of Reproduction*, 69, 355– 364.
- Diwan, A.D., Joseph, S. and Ayyappan, S. (2009). Physiology of reproduction, breeding and culture of tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). *Narendra Publishing House*. 1, 1-292 .
- El-Sherif, S.S., El-Khodary, M.G. and Ghonim, A. (2012). Ovarian cycle and scanning electron micrographs of the spawned egg of female mantis shrimp *Oratosquilla massavensis* (Alexandria, Egypt). *Basic and Applied Zoology*, 65, 116-124.
- He, H., Xi, G., and Lu, X . (2010). Molecular cloning characterization and expression analysis of an estrogen receptor-related homologue in the cricket *Teleogryllus emma*. *Journal of Insect Science*. 10(188): 1-16.
- Khayat, M., Babin, P.J., Funkenstein, B., Sammar, M., Nagasawa, H., Tietz, A. and Lubzens, E. (2001). Molecular characterization and high expression during oocyte development of a shrimp ovarian

- cortical rod protein homologous to insect intestinal peritrophins. *Biology of Reproduction*. 64, 1090–1099.
- Sambrook, J. and Russell D.W. (2006). *Fragmentation of DNA by Nebulization*. *Cold Spring Harb Protoc*. New York: USA.
- Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press* (3rd ed.). New York: USA.
- Santos, C.S. and Negreiros-Fransozo, M.L. (1999). Reproductive cycle of the swimming crab *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea, Oecapoda, Brachyura) from Ubatuba, Sao Paulo, Brazil. *Interciencia Series Zoologia*. 22(5): 259-263.
- Son, M.S., Taylor, R.K. (2011). Preparing DNA libraries for multiplexed paired-end deep sequencing for illumina GA sequencers. *Curr Protoc Microbiol*. 20, 1E.4.1–1E.4.13
- Tiu, S.H.K., Benzie, J. and Chan, S.-M. (2008). From hepatopancreas to ovary: molecular characterization of a shrimp vitellogenin receptor involved in the processing of vitellogenin. *Biology of Reproduction*. 79(1), 66-74.
- Tiu, S.H.K., Hui, J. H., Mak, A.S., He, J.G. and Chan, S.M. (2006). Equal contribution of hepatopancreas and ovary to the production of vitellogenin (PmVg1) transcripts in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 254, 666–674.
- Treerattrakool, S., Panyim, S., Chan, S.M., Withyachumnarnkul, B. and Udomkit, A. (2008). Molecular characterization of gonad-inhibiting hormone of *Penaeus monodon* and elucidation of its inhibitory role in vitellogenin expression by RNA interference. *FEBS Journal*. 275, 970–980.
- Tseng, D. Y., Chen, Y. N., Kou, G. H., Lo, C. F. and Kuo, C. M. (2001). Hepatopancreas is the extraovarian site of vitellogenin synthesis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Comp. biochem physiology*. 129, 909-917.
- Tsutsui, N., Kawazoe, I., Ohira, T., Jasmani, S., Yang, W.J., Wilder, M.N. and Aida, K. (2000). Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus*. *Zoological science*, 17, 651–660.
- Wilder, M. N., Okumura, T. and Tsutsui, N. (2010). Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: Vitellogenin structure, processing and synthetic control. *Aqua-BioScience Monographs*. 3, 73-110.
- Adiyodi, K.G., and Adiyodi, R.G.. (1970). Endocrine control of reproduction in decapod Crustacean. *Biol. Rev.* 45: 121-165.
- Anderson, M.W., and Schrijver, I. (2010). Next generation DNA sequencing and the future of Genomic Medicine. *Genes*. 1, 38–69.
- Ansorge, W.J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *Nat Biotechnol*. 25, 195–203.
- Bannister, R., Beresford, N., May, D., Routledge, E.J., Jobling, S., and Weaver, M.R., 2007. Novel estrogen receptor-related transcripts in *Marisa cornuarietis*; a freshwater snail with reported sensitivity to estrogenic chemicals. *Environ. Sci. Technol*. 41, 2643–2650
- Bledsoe, R.K., Stewart, E.L., and Pearce, K.H. (2004). Structure and function of the glucocorticoid receptor ligand binding domain. *Vitam Horm*. 68:49-91.
- Castro, L.F.C., Melo, C., Guillot, R., Mendes, I., Queiros, S., Lima, D., Reis-Henriques, M.A., and Santos, M.M., 2007. The estrogen receptor of the gastropod *Nucella lapillus*: modulation following exposure to an estrogenic effluent?. *Aquat. Toxicol*. 84, 465–468
- Claessens, F., and Gewirth, D.T. (2004). DNA recognition by nuclear receptors. *Essays Biochem*. 40:59-72.

- Edwards, DP. (2000). The role of coactivators and corepressors in the biology and mechanism of action of steroid hormone receptors. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. Jul;5(3):307-24.
- Endocrinol. 151, 195–201. Ghosh, D., and Ray, A.K. (1993). 17 $\alpha$ -Hydroxysteroid dehydrogenase activity of ovary and hepatopancreas of fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, relation to ovarian condition and estrogen treatment. *Gen. Comp. Endocrinol.* 89: 248–254.
- He, H., Xi, G., and Lu, X. (2010). Molecular cloning characterization and analysis of an estrogen receptor-related homologue in the cricket *Teleogryllus emma*. *Journal of Insect Science*. 10(188): 1-16.
- Keay, J., Bridgham, J.T., and Thornton J.W. (2006). The *Octopus vulgaris* Estrogen Receptor Is a Constitutive Transcriptional Activator: Evolutionary and Functional Implications. *Endocrinology*. 147(8):3861–3869.
- Kong, EH., Heldring, N., Gustafsson, JA., Treuter, E., Hubbard, RE., and Pike, AC. (2005). Delineation of a unique protein-protein interaction site on the surface of the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. Mar 8;102(10):3593-8.
- Kajiwara, M., Kuraku, S., Kurokawa, T., Kato, K., Toda, S., Hirose, H., Takahashi, S., Shibata, Y., Iguchi, T., Matsumoto, T., Miyata, T., Miura, T., and Takahashi, Y., (2006). Tissue preferential expression of estrogen receptor gene in the marine snail, *Thais clavigera*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 148, 315–326.
- Matsumoto, T., Nakamura, A.M., Mori, K., Akiyama, I., Hirose, H., and Takahashi, Y. (2007). Oyster estrogen receptor: cDNA cloning and immunolocalization. *Gen. Comp.*
- Moehren, U., Eckey, M., and Baniahmad, A. (2004). Gene repression by nuclear hormone receptors. *Essays Biochem.* 40:89-104.
- Nagasawa, K., Treen, N., Kondo, R., Otoki, Y., Itoh, N., Rotchell, J.M., and Osada, M. (2015). Molecular characterization of an estrogen receptor and estrogen-related receptor and their autoregulatory capabilities in two *Mytilus* species. *Gene*. 564: 153–159.
- Preechaphol, R., Klinbunga, S., Yamono, K., and Menasveta, P. (2010). Molecular cloning and expression of *progesterin membrane receptor component 1 (PGMRC1)* of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 168: 440-449.
- Puinean, A.M., Labadie, P., Hill, E.M., Osada, M., Kishida, M., Nakao, R., Novillo, A., Callard, I.P., Rotchell, and J.M., (2006). Laboratory exposure to 17 $\beta$ -estradiol fails to induce vitellogenin and estrogen receptor gene expression in the marine. *Aquat. Toxicol.* 79, 376–383
- Sternberg, R.M., Hotchkiss, A.K., and LeBlanc, G.A. (2008). The contribution of steroidal androgens and estrogens to reproductive maturation of the eastern mud snail *Ilyanassa obsoleta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 156: 15–26.
- Tamrazi, A., Carlson, KE., Rodriguez, AL., and Katzenellenbogen, JA. (2005). Coactivator proteins as vbdeterminants of estrogen receptor structure and function: spectroscopic evidence for a novel coactivator-stabilized receptor conformation. *Mol Endocrinol.* Jun:19(6):1516-28
- Thornton, J.W., Need, E., and Crews, D., (2003). Resurrecting the ancestral steroid receptor: ancient origin of estrogen signaling. *Science*. 301: 1714–1717.
- Warrier, S.R., Tirumalai, R., and Subramoniam, T. (2001). Occurrence of vertebrate steroids, estradiol-17 $\alpha$  and progesterone in the reproducing females of the mud crab *Scylla serrata*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 130: 283–294.
- Yang, X., Zhao, L., Zhao, Z., Hu, B., Wang, B., Yang, Z., and Cheng, Y. (2012). Immunolocalization of estrogen receptor  $\alpha$  in *Neomysis japonica* oocytes and follicle cells during ovarian development. *Tissue and Cell*. 44: 95– 100.

- Zhang, H., Pan L., Zhang, L., (2012). Molecular cloning and characterization of estrogen receptor gene in the Scallop *Chlamys farreri*: Expression profiles in response to endocrine disrupting chemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 156: 51–57
- Zhu, W., Mantione, K., Jones, D., Salamon, E., Cho, J.J., Cadet, P., and Stefano, G.B. (2003). The presence of 17 $\beta$ -estradiol in *Mytilus edulis* gonadal tissues: evidence for estradiol isoforms. *Neuroendocrinol. Lett.* 24: 137–140.
- Clark, K.F., Acorn, A.R. and Greenwood, S.J. (2013). Differential expression of American lobster (*Homarus americanus*) immune related genes during infection of *Aerococcus viridans* var. *homari*, the causative agent of Gaffkemia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 112, 192-202.
- Collart, M.A. and Panasenko, O.O. (2012). The Ccr4-Not complex. *Gene*, 492, 42-53.
- Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S., Gomez-Cabrero, D., Cervera, A., McPherson, A., SzczeŚniak, M.W., Gaffney, D.J., Elo, L.L., Zhang, X. and Mortazavi, A. (2016). A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biology*, 17:13.
- Garcia-Seco, D., Zhang, Y., Gutierrez-Mañero, F.J., Martin, C. and Ramos-Solano, B. (2015). RNA-Seq analysis and transcriptome assembly for blackberry (*Rubus* sp. Var. Lochness) fruit. *BMC Genomics*. 16:5, 1-11.
- Hass, B.J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P.D., Bowden, J., Couger, M.B., Eccles, D., Li, B., Lieber, M., MacManes, M.D., Ott, M., Orvis, J., Pochet, N., Westerman, R., William, T., Dewey, C.N., Henschel, R., LeDuc, R.D., Friedman, N. and Regev, A. (2013). De novo transcript sequence reconstruction from RNA-Seq: reference generation and analysis with Trinity. *NIH Public Access Author Manuscript*, 8, 1-43.
- Hunter, G.A. and Ferreira, G.C. (2011). Molecular enzymology of 5-Aminolevulinic acid synthase, the gatekeeper of heme biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1814, 1467-1473.
- Nam, B.H., Seo, J.K., Go, H.J., Lee, M.J., Kim, Y.O., Kim, D.G., Lee, S.J. and Park, N.G. (2012). Purification and characterization of an antimicrobial histone H1 like protein and its gene from the testes of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 33, 92-98.
- Valenzuela-Muñoz, V., Chavez-Mardones, J. and Gallardo-Escárate, C. (2015). RNA-seq analysis evidences multiple gene responses in *Caligus rogercresseyi* exposed to the anti-salmon lice drug azamethiphos. *Aquaculture*, 446, 156-166.
- Varvas, K., Kurg, R., Hansen, K., Järving, R., Järving, L., Valmsen, K., Löhelaid, H. and Samel, N. (2009). Direct evidence of the cyclooxygenase pathway of prostaglandin synthesis in arthropods: Genetic and biochemical characterization of two crustacean cyclooxygenase. *Insect Biochemistry and Molecular biology*, 39, 851-860.
- Waiho, K., Fazhan, H., Shahreza, M.S., Moh, J.H.Z., Noorbaiduri, S., Wong, L.L., Sinnasamy, S. and Ikhwanuddin, M. (2017). Transcriptome Analysis and Differential Gene Expression on the Testis of Organ Mud Crab, *Scylla olivacea*, during Sexual Maturation. *PLOS ONE*, 1-29.
- Watmough, N.J. and Freman, F.E. (2010). The electron transfer flavoprotein: Ubiquinone oxidoreductases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1797, 1910-1916.
- Zhang, S., Sui, Z., Chang, L., Kang, K., Ma, J., Kong, F., Zhou, W., Wang, J., Guo, L., Geng, H., Zhong, J. and Ma, Q. (2014). Transcriptome *De novo* assembly sequencing and analysis of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* using Illumina platform. *Gene*, 537, 285-293.