

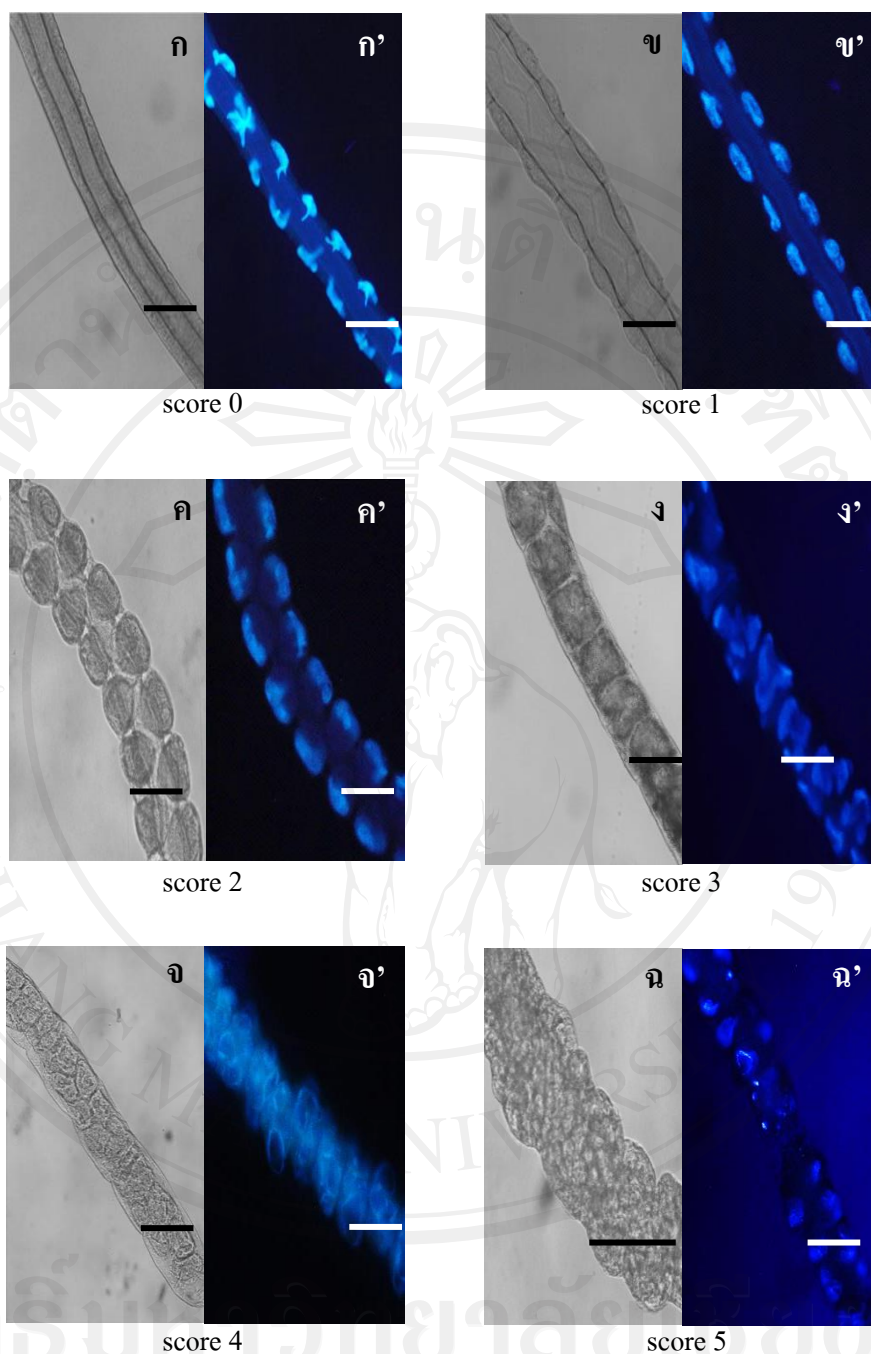
## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ผลของฮอร์โมนจิวินส์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ในระยะไคอะพอส

เมื่อทำการทดลองให้ฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น ในวันที่ 0 2 4 6 8 10 และ 12 หลังจากให้ฮอร์โมน JHA และเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะคักแค้ (G0-G3) ผลการทดลองพบว่าฮอร์โมน JHA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้ต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาอย่างเป็นขั้นตอน สามารถแบ่งการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นออกได้เป็นคะแนนการตาย 6 ระดับ ดังนี้คือ

- score 0 ลักษณะท่อใหม่จะเป็นท่อตรงไม่สามารถสังเกตเห็นขอบเขตของเซลล์ได้ท่อจะโปร่งแสง นิวเคลียสมีรูปร่างยาวมากกว่ากลมและแตกเป็นกิ่ง (ภาพที่ 4.1 ก-ก')
- score 1 เซลล์เริ่มมีการหดตัวทำให้เห็นขอบเขตของเซลล์ได้ ผิวภายนอกตอมโป่งออกเป็นบางบริเวณ ตอมโปร่งแสง นิวเคลียสยาว เริ่มเห็นนิวเคลียสอัดแน่นในบริเวณที่ตอมโป่งออก (ภาพที่ 4.1 ข-ข')
- score 2 ลักษณะตอมในบางบริเวณจะทึบแสง เซลล์แยกห่างจากกันมากขึ้นทำให้มองเห็นภายนอกของท่อ มีลักษณะกลม นิวเคลียสจะมีการอัดแน่นทั่วทั้งตอม ทำให้เห็นเป็นรูปทรงกลม (ภาพที่ 4.1 ค-ค')
- score 3 ตอมสร้างใหม่ส่วนต้นจะทึบแสงมากขึ้น เซลล์มีการหดตัวและนิวเคลียสมีการอัดแน่นเข้าหากันมากขึ้นทั่วทั้งตอม สามารถสังเกตเห็นขอบเขตของเซลล์ได้ชัดเจน (ภาพที่ 4.1 ง-ง')
- score 4 นิวเคลียสของแต่ละเซลล์จะหดเข้ามาอยู่ใกล้กันทำให้เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์ชัดเจน (intercellular space) เห็นนิวเคลียสมีการอัดแน่น (ภาพที่ 4.1 จ-จ')
- score 5 ตอมสร้างใหม่ส่วนต้นจะเสียสภาพ มี apoptotic bodies ขนาดเล็กๆ กระจายทั่วไปและจะไม่พบเซลล์และนิวเคลียสที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4.1 ฉ-ฉ')



ภาพที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์  
ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นตามระดับคะแนนการตายต่างๆ (ก-ณ) ภาพถ่ายจากแสงธรรมดา;  
(ก'-ณ') ภาพถ่ายจากแสงฟลูออเรสเซนซ์; — เท่ากับ 200 ไมโครเมตร)

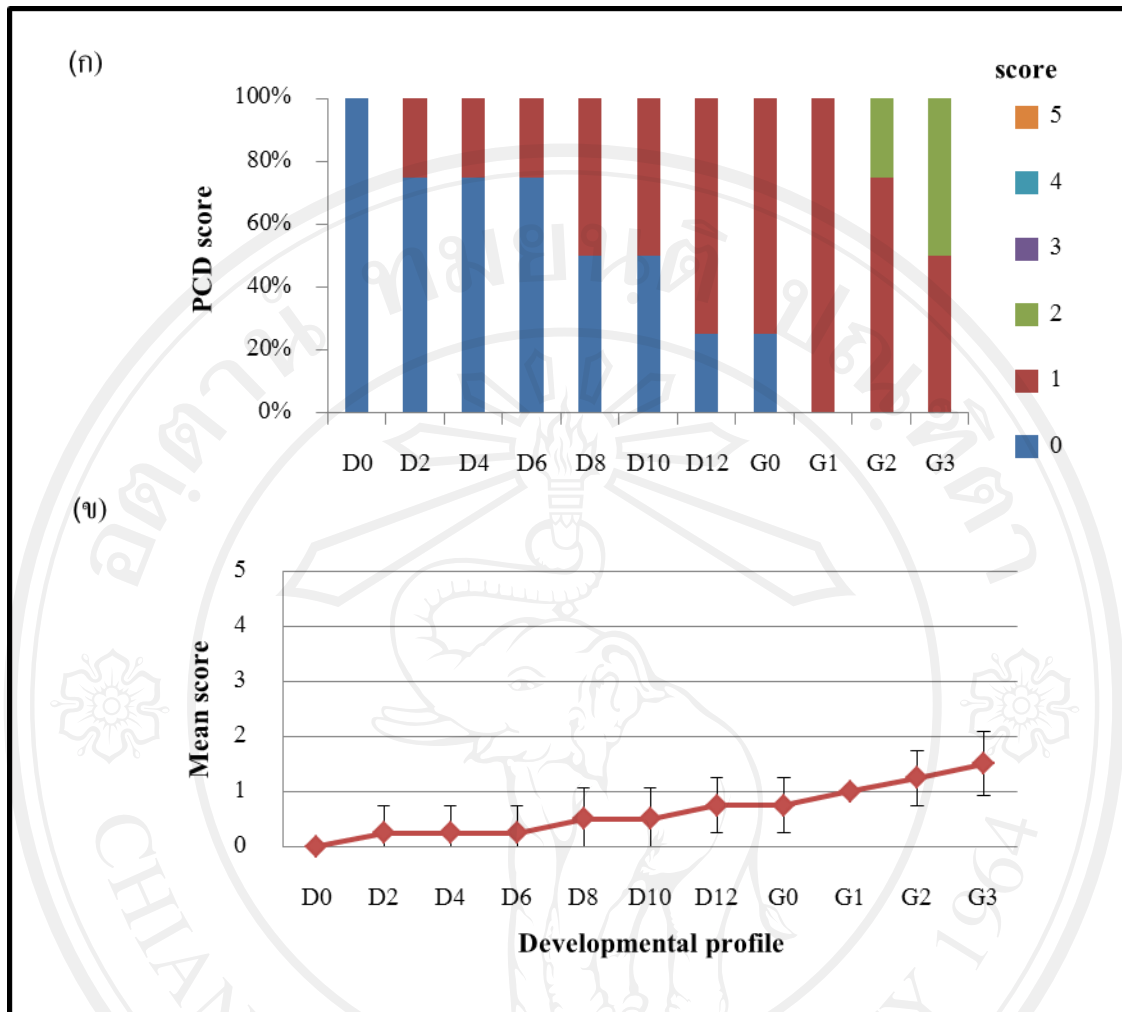
เมื่อนำค่าของระดับคะแนนการตายต่างๆ ที่เกิดขึ้นในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟที่ ได้รับฮอร์โมน JHA ในวันต่างๆ กัน จนเข้าสู่ระยะดักแด้ (D0-D12 หมายถึง จำนวนวันหลังจากที่ได้รับฮอร์โมน JHA และ G0-G0 หมายถึง ระยะที่ตัวหนอนเปลี่ยนแปลงไปเป็นดักแด้โดยแบ่งตามสีของกิวติเคิล) มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ของต่อมที่เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ พบว่าฮอร์โมน JHA แต่ละความเข้มข้น ชักนำไปเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ได้ แต่ระดับคะแนนการตาย ในระยะ G3 มีความแตกต่างกัน ( $P < 0.05$ ) โดยมีเปอร์เซ็นต์ของต่อมที่เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์เป็นดังนี้

#### 4.1.1 กลุ่มควบคุม

ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนกลุ่มที่ได้รับอะซิโตนเพียงอย่างเดียว พบว่าในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 20 การเกิดคะแนนการตายของต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นจะอยู่ในระดับ score 0 ตลอดช่วงของการเป็นตัวหนอนระยะไคอะพอส

#### 4.1.2 กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าในวันที่ 0 ต่อมนั้นจะอยู่ในระดับ score 0 เท่ากับ 100% จากนั้นในวันที่ 2 จนถึงวันที่ 6 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยที่พบระดับ score 0 เท่ากับ 75% และระดับ score 1 เท่ากับ 25% ในวันที่ 8 และวันที่ 10 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยที่พบระดับ score 0 และระดับ score 1 อย่างละ 50% และในวันที่ 12 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยจะพบระดับ score 0 เท่ากับ 25% และระดับ score 1 เท่ากับ 75% ต่อมาในระยะ G0 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 0 เท่ากับ 25% และระดับ score 1 เท่ากับ 75% ในระยะ G1 จะพบระดับ score 1 เท่ากับ 100% ในระยะ G2 ระดับ score ที่พบคือ score 1 และ score 2 โดยจะพบระดับ score 1 เท่ากับ 75% และระดับ score 2 เท่ากับ 25% และเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G3 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 1 และ score 2 อย่างละ 50% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2 ก) จากกราฟค่า mean score หาได้จากการนำค่า คะแนนการตายของต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นทั้ง 4 ต่อมนับรวมกันแล้วหารด้วยจำนวนต่อมทั้งหมด (4 ต่อม) แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาแสดงเป็นกราฟพบว่า การเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟที่ได้รับฮอร์โมน JHA ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร จะเริ่มเกิดขึ้นในวันที่ 2 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมนและค่า mean score จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ (G0-G3) ซึ่งจะพบว่าค่าของ mean score จะอยู่ในช่วง score 0 ถึง score 1.5 (ภาพที่ 4.2 ข)

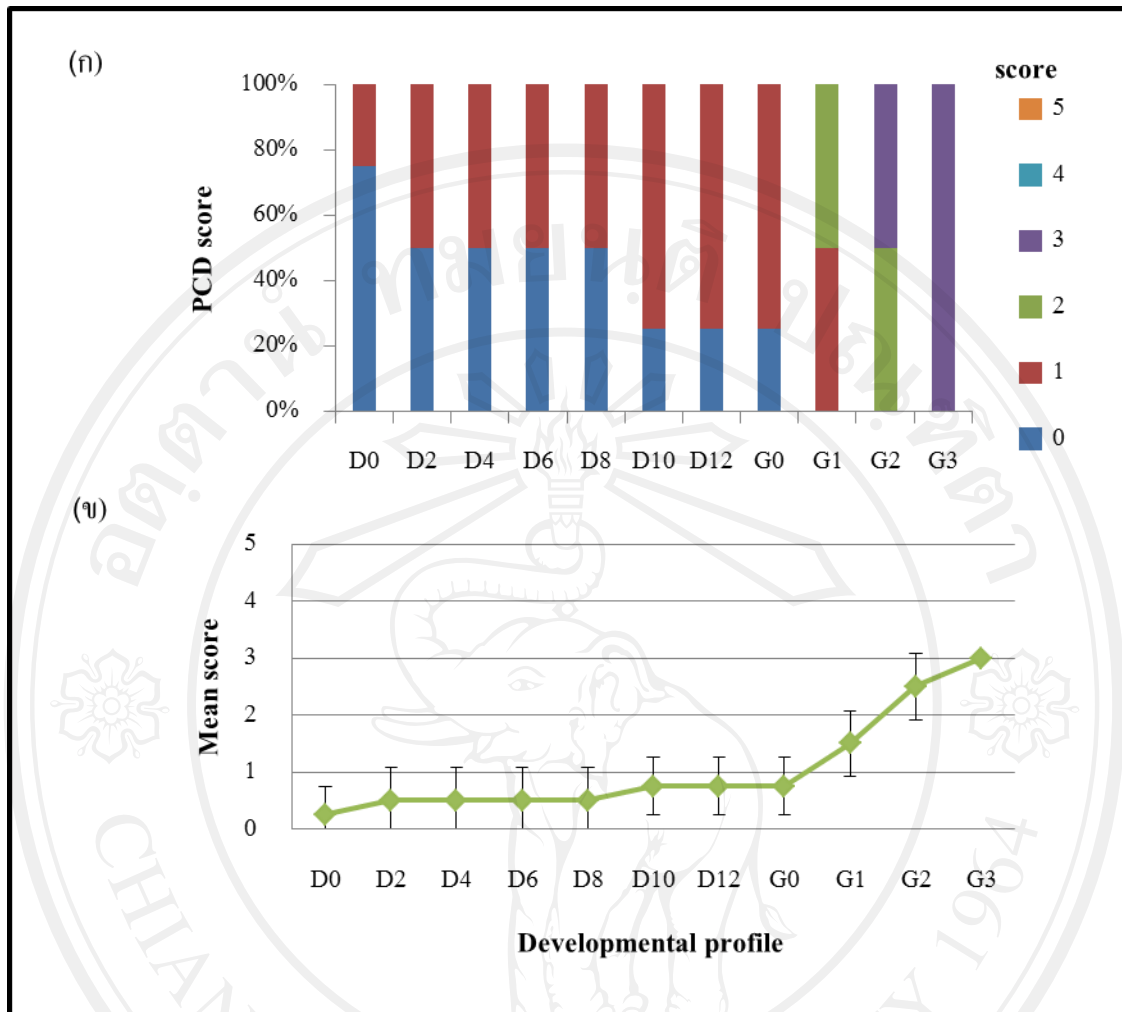


ภาพที่ 4.2 (ก) แสดงเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น ที่ระดับคะแนนการตายต่างๆ หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

(ข) แสดงค่า mean score ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

#### 4.1.3 กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าในวันที่ 0 ต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นจะอยู่ในระดับ score 0 และระดับ score 1 โดยที่จะพบระดับ score 0 เท่ากับ 75% และระดับ score 1 เท่ากับ 25% จากนั้นในวันที่ 2 จนถึงวันที่ 8 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยจะพบระดับ score 0 และระดับ score 1 อย่างละ 50% ในวันที่ 10 และวันที่ 12 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยจะพบระดับ score 0 เท่ากับ 25% และระดับ score 1 เท่ากับ 75% ต่อมาในระยะ G0 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 0 เท่ากับ 25% และระดับ score 1 เท่ากับ 75% ในระยะ G1 ระดับ score ที่พบคือ score 1 และ score 2 โดยจะพบระดับ score 1 และระดับ score 2 อย่างละ 50% ในระยะ G2 ระดับ score ที่พบคือ score 2 และ score 3 โดยจะพบระดับ score 2 และระดับ score 3 อย่างละ 50% และเมื่อหนอนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะ G3 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 3 เท่ากับ 100% (ภาพที่ 4.3 ก) จากกราฟแสดงค่า mean score พบว่าการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟที่ได้รับฮอร์โมน JHA ที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร จะเริ่มเกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 0 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมนและค่า mean score จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนหนอนมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ (G0-G3) ค่าของ mean score จะสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าค่าของ mean score จะอยู่ในช่วง score 0 จนถึง score 3 (ภาพที่ 4.3 ข)

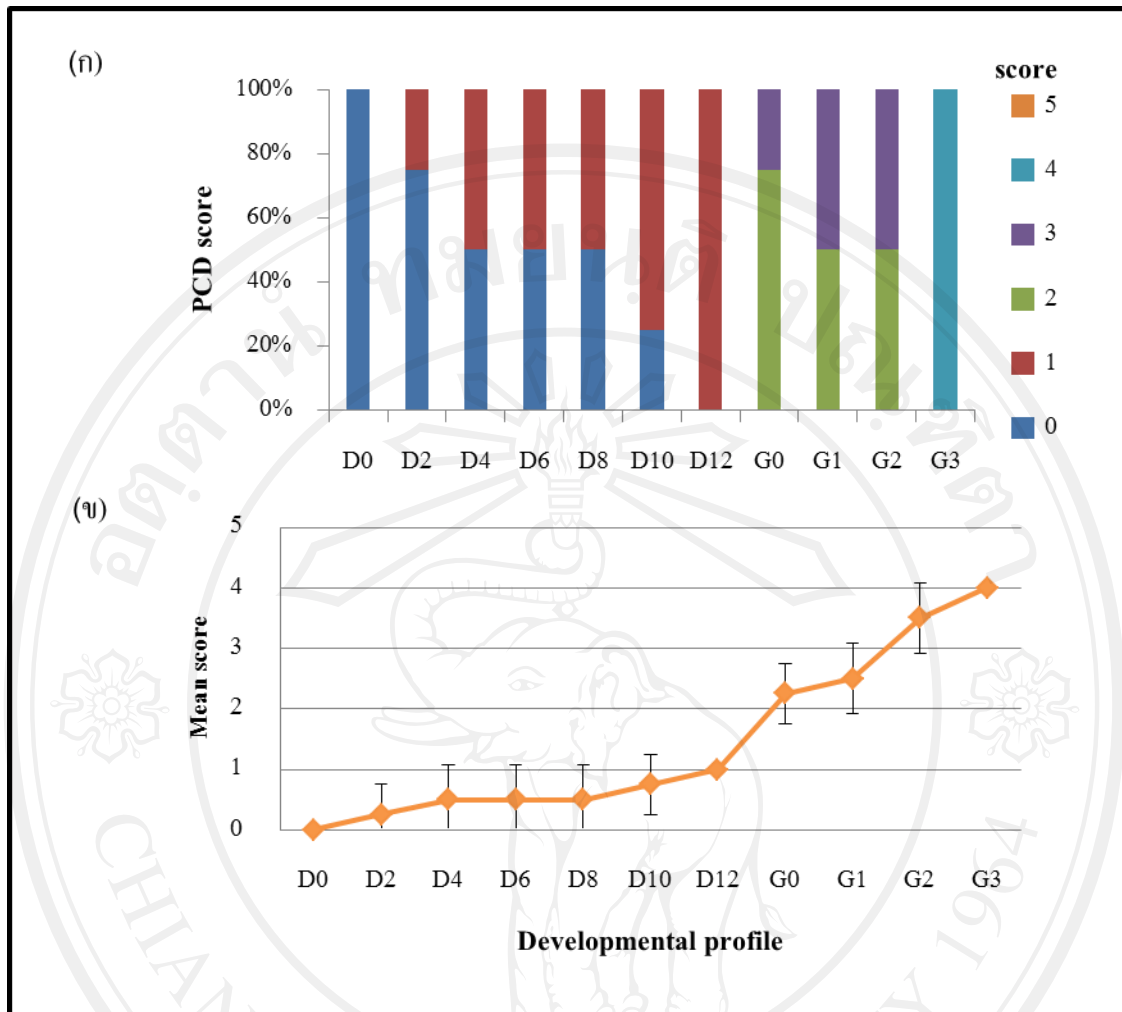


ภาพที่ 4.3 (ก) แสดงเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างไทม์ส่วนต้น ที่ระดับคะแนนการตายต่างๆ หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

(ข) แสดงค่า mean score ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างไทม์ส่วนต้น หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

#### 4.1.4 กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

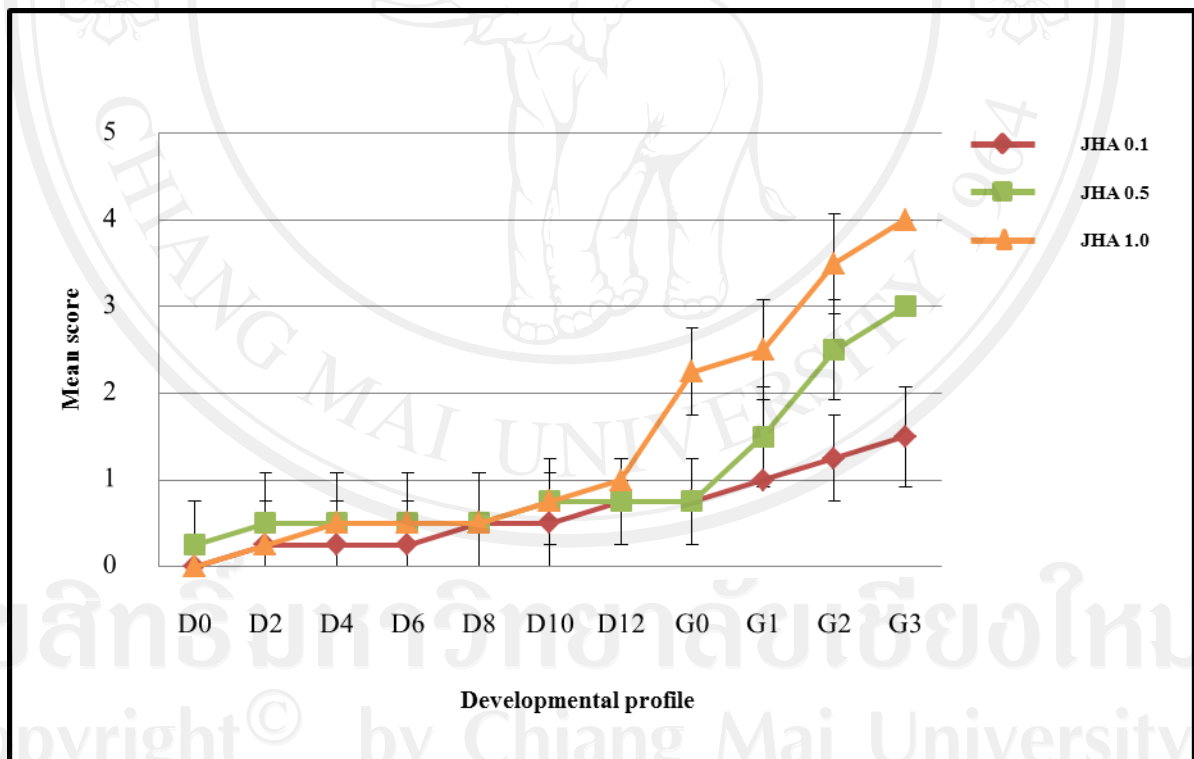
ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าในวันที่ 0 ต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นจะอยู่ในระดับ score 0 เท่ากับ 100% ในวันที่ 2 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยที่พบระดับ score 0 เท่ากับ 75% และระดับ score 1 เท่ากับ 25% ในวันที่ 4 จนถึงวันที่ 8 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 อย่างละ 50% ในวันที่ 10 ระดับ score ที่พบคือ score 0 และ score 1 โดยที่พบระดับ score 0 เท่ากับ 25% และระดับ score 1 เท่ากับ 75% ในวันที่ 12 จะพบระดับ score 1 เท่ากับ 100% ต่อมาในระยะ G0 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 2 เท่ากับ 75% และระดับ score 3 เท่ากับ 25% ในระยะ G1 และระยะ G2 จะพบระดับ score 2 และ score 3 อย่างละ 50% และเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G3 จะพบต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นอยู่ในระดับ score 4 เท่ากับ 100% (ภาพที่ 4.4 ก) จากกราฟแสดงค่า mean score พบว่าเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟที่ได้รับฮอร์โมน JHA ที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร จะเริ่มเกิดขึ้นในวันที่ 2 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมนและโดยจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 จนถึงวันที่ 12 และพบว่าในช่วงที่ตัวหนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นคักแค้ (G0-G3) ลักษณะกราฟของค่า mean score จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นเมื่อเข้าสู่ระยะ G ที่สูงขึ้น ซึ่งจะพบว่าค่าของ mean score ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร จะอยู่ในช่วง score 0 ถึง score 4 (ภาพที่ 4.4 ข)



ภาพที่ 4.4 (ก) แสดงเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างไทม์ส่วนต้นที่ระดับคะแนนการตายต่างๆ หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

(ข) แสดงค่า mean score ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างไทม์ส่วนต้น หลังจากหนอนเชื้อไฟได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

เมื่อนำค่า mean score ของการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟ ในแต่ละกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร มาเปรียบเทียบกับพบว่า ในช่วงวันที่ 0 จนถึงวันที่ 12 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมน JHA ค่า mean score ของทุกกลุ่มจะมีค่าใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วงระดับ score 0 จนถึงระดับ score 1 หลังจากนั้นในช่วงที่ ตัวหนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นดักแด้ (G0-G3) จะพบว่าค่า mean score จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด การเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร ค่า mean score จะอยู่ในช่วง score 0 จนถึง score 1.5 การเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร ค่า mean score จะอยู่ในช่วง score 0 จนถึง score 3 และ การเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตรค่า mean score จะอยู่ในช่วง score 0 จนถึง score 4 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 แสดงค่า mean score ของการเกิด โปรแกรมการตายของเซลล์ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของ หนอนเชื้อไฟหลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

## 4.2 ผลของฮอร์โมนจูวีนัลต่อการอัดแน่นและการแตกหักของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่

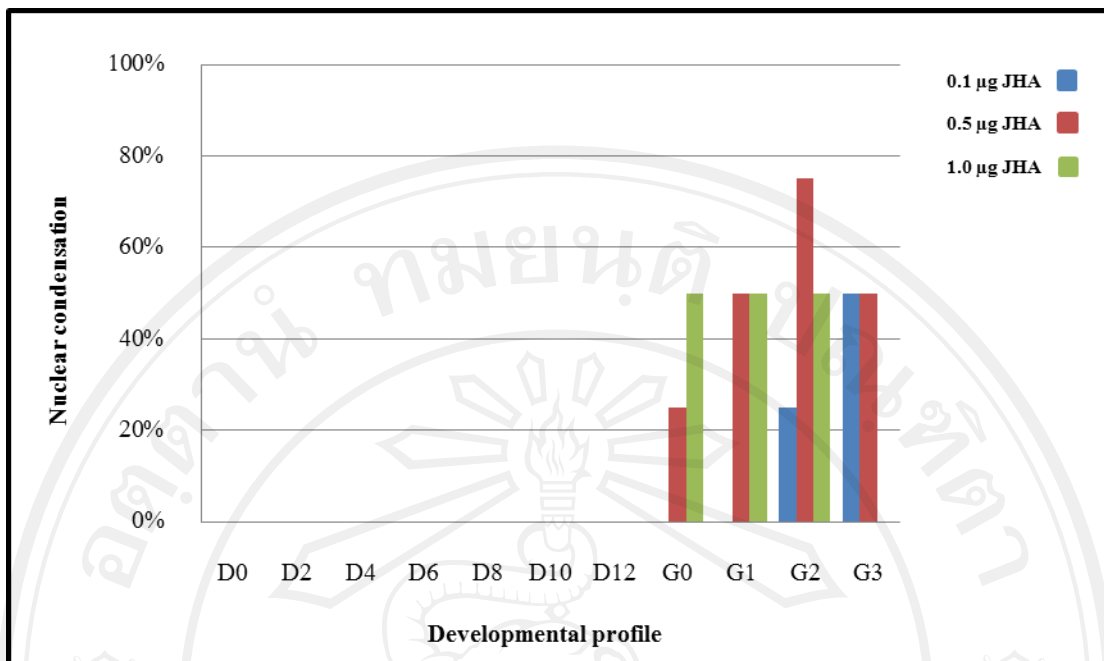
ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA นอกจากจะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายนอกเซลล์ (extracellular) แล้วยังมีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ (intracellular) เกิดขึ้นอีกด้วยคือ นิวเคลียสจะเกิดการอัดแน่นกัน แล้วจากนั้นก็เกิดการแตกหักของนิวเคลียสขึ้น ดังนั้นจึงได้ติดตามดูผลการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

### 4.2.1 การเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียส

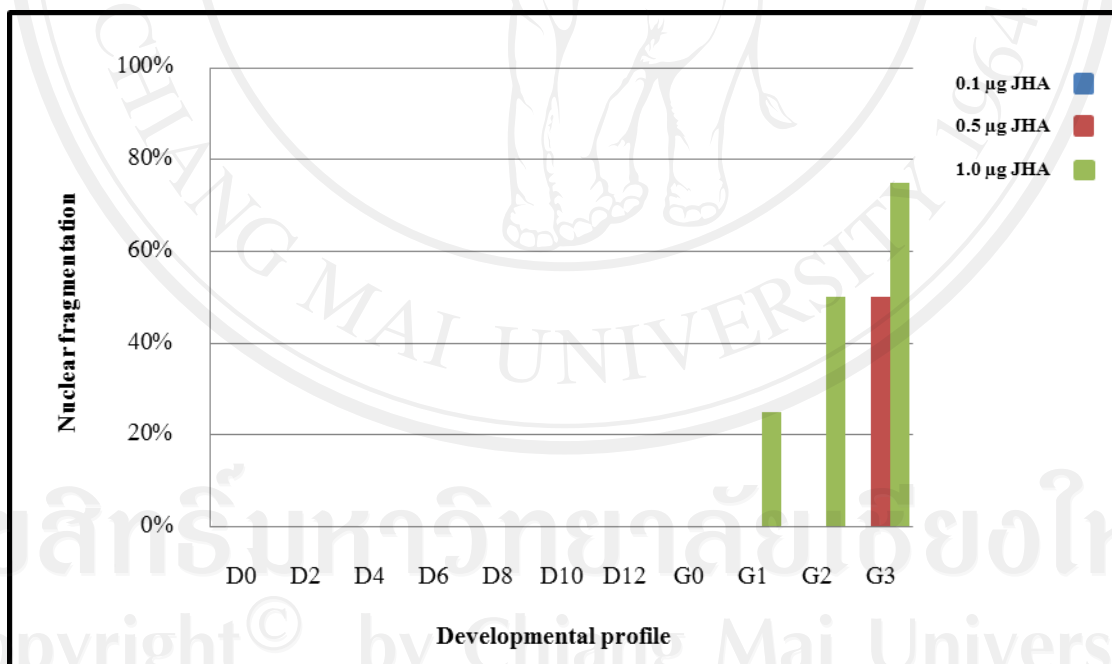
การเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าการอัดแน่นของนิวเคลียสจะเกิดขึ้นในระยะ G2 และระยะ G3 มีค่าเท่ากับ 25% และ 50% การเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าการอัดแน่นของนิวเคลียสจะเกิดขึ้นในระยะ G0 จนถึงระยะ G3 มีค่าเท่ากับ 25% 50% 75% และ 50% และในการเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าการอัดแน่นของนิวเคลียสจะเกิดขึ้นในระยะ G0 จนถึงระยะ G2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 50% เท่ากัน (ภาพที่ 4.6)

### 4.2.2 การเกิดการแตกหักของนิวเคลียส

ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร จะไม่พบการแตกหักของนิวเคลียสเลย ส่วนการเกิดการแตกหักของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร พบว่าการแตกหักของนิวเคลียสจะเกิดขึ้นในระยะ G3 มีค่าเท่ากับ 50% และการเกิดการแตกหักของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตรจะเกิดขึ้นในระยะ G1 จนถึงระยะ G3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 25% 50% และ 75% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7)



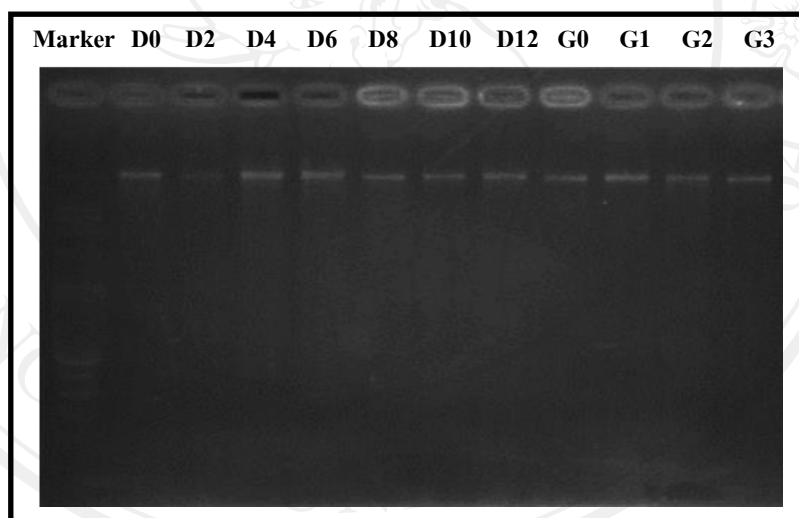
ภาพที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การหดตัวของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไผ่ หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร



ภาพที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การแตกหักของนิวเคลียสในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไผ่ หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

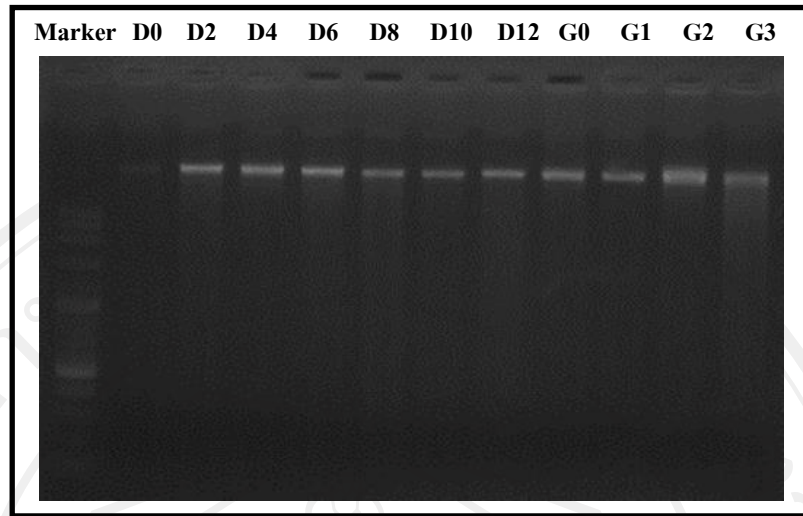
#### 4.3 ผลของฮอร์โมนจิวินต่อการแตกหักของดีเอ็นเอในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่

นอกจากจะสังเกตการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์โดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และของนิวเคลียสแล้ว ยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอว่ามีการแตกหักด้วยหรือไม่ โดยเมื่อทำการทดลองให้ฮอร์โมน JHA ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร แก่หนอนเยื่อไผ่ จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอจากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นในวันที่ 0 2 4 6 8 10 และ 12 หลังจากให้ฮอร์โมน JHA และเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ (G0-G3) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจการแตกหักของดีเอ็นเอ โดยดูจากการเกิด DNA laddering โดยวิธีการทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เมื่อนำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นความเข้มข้น 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาตรวจสอบโดยใช้วิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสพบว่าไม่สามารถตรวจพบ DNA laddering จากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ทุกระยะหลังจากได้รับฮอร์โมน JHA (ภาพที่ 4.8-4.10)

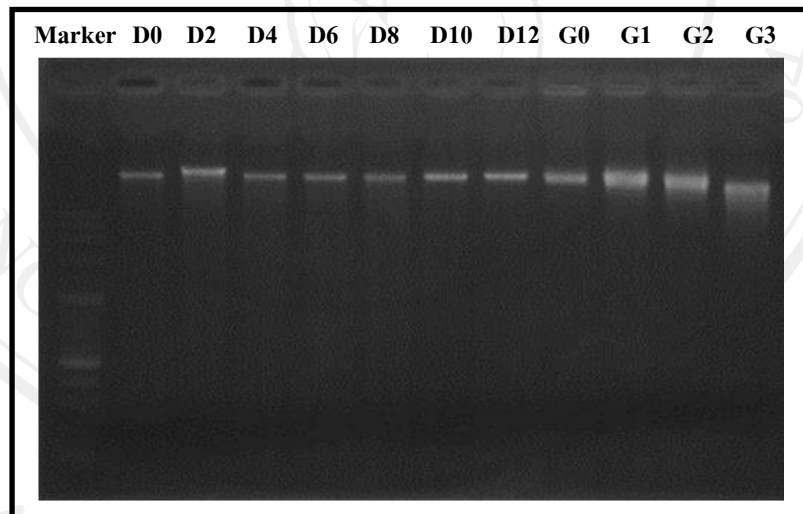


ภาพที่ 4.8 แสดงลักษณะของดีเอ็นเอความเข้มข้น 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University  
All rights reserved



ภาพที่ 4.9 แสดงลักษณะของดีเอ็นเอความเข้มข้น 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร



ภาพที่ 4.10 แสดงลักษณะของดีเอ็นเอความเข้มข้น 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

#### 4.4 ผลลำดับเบสของยีน *OfBR-C* และการแสดงออกของ *OfBR-C* mRNA ในต่อมสร้างไหมส่วนต้นของ หนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส

##### 4.4.1 ผลลำดับเบสของยีน *OfBR-C*

การหาลำดับเบสครั้งแรกของ *OfBR-C* ได้ใช้ degenerate primer ที่ได้ออกแบบมาจากบริเวณ common region มาทำ PCR และใช้ cDNA ที่เตรียมได้จากเนื้อเยื่อผิวหนังของหนอนเยื่อไผ่ระยะ G2 เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ นำผลผลิตที่ได้จากการทำ PCR มาทำให้บริสุทธิ์แล้วนำไปหาลำดับเบสพบว่ามีความยาว 636 bp หรือ 212 amino acid จากนั้นจึงได้ออกแบบ specific primer ที่ทำให้ได้ยีนมีความยาว 513 bp และหาลำดับเบสซึ่ง fragment ที่มีความยาว 512 bp หรือ 170 amino acid เมื่อนำลำดับเบสไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกันกับยีน *BR-C* ในหนอนไหม (*B. mori*) accession no. AB166727.1 เท่ากับ 76% และในหนอนใบชาสูบ (*M. sexta*) accession no. AF032676.1 เท่ากับ 78% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.11 และ 4.12)

*BmBR-C* TGGAACAAC TACCAGCGCAGTATTACCAGCGCCTTCGAGAACCTTCGCGACGACGAGGAC 60  
*MsBR-C* TGGAACAAC TACCAGCGCAGCATCACTAGCGCCTTCGAGAACCTTCGGGATGACGAGGAC 60  
*OfBR-C* -----GCCCAG-----TGGGTCAGAGAGGAT 21  
 \*\* \*\* \* \*: ...\*\*\*\*\*

*BmBR-C* TTCGTGACGTCACGCTCGCCTGCGACGGGAAAAGCCTCAAAGCTCATAGAGTCGTGCTG 120  
*MsBR-C* TTCGTGGACGTGACCTGGCGTGCATGGGAAGAGTCTGAAGGCGCACCGCGTCGTACTA 120  
*OfBR-C* TTTGTGGACGTTACCTGGCCTGCGATGGGAAGAGCCTGAAAGCGCATAGAGTGGTCCTT 81  
 \*\* \* \*\*\*\*\* \*\* \* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* TCAGCTTGACGCCCTTATTTAGAGAATTATTGAAGTCCACGCCGTGCAAGCATCCAGTG 180  
*MsBR-C* TCCGCTTGACGCCGTACTTCAGGGAGCTGTTGAAATCAACGCCATGCAAGCACCAGTG 180  
*OfBR-C* TCAGCTTGACGCCATATTCAGGGAGCTGTTGAAGTCAACACCATGCAAGCACCAGTG 141  
 \*\* \* \*\*\*\*\* \*\* \* \*\*\*\*\* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* ATCGTGCTTCAAGACGTGGCGTACACAGACCTTCACGCCCTGGTCGAGTTCATCTACCAC 240  
*MsBR-C* ATCGTGCTTCAAGACGTGGCCTTTACGGACCTGCACGCGCTGGTCGAGTTCATCTACCAC 240  
*OfBR-C* ATCGTGCTTCAAGATGTCGCGTTCACGGATCTCCACGCGCTGGTCGAGTTCATCTACCAC 201  
 \*\*\*\*\* \*\* \* \* \* \* \* : \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* GGCGAGGTCAACGTTACACGACAGCTTGTCTCATTCCTGAAGACAGCTGAGGTGCTC 300  
*MsBR-C* GGCGAGGTCAACGTCACACGACAGCCTTCTTCGTTCTTCAAGACCGCTGAAGTGCTC 300  
*OfBR-C* GGCGAGGTCAACGTCACACGCGGTGTTGTCTCTGTTGCTGAAACCGCTGAGGTGCTG 261  
 \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* : \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* CGTGTCTCCGGTCTCACACACAATGACGCTGCCAG---GGGCCCTGCTGCAGACCATG 357  
*MsBR-C* CGCGTATCTGGACTCAGCATAATGACGGAGCTCAGACTGCGCCGCTGCTGCAGACCATG 360  
*OfBR-C* CGAGTCTCCGGCTCACCCAGAATGAAGATGTGCAG---GTCCGCTGCTGAAACCGGTA 318  
 \*\* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* : \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* CGG---TCGTGACGAGCTCCGTACCCCCACACGCCACCCACCCGCGCCACTCTACCCAT 414  
*MsBR-C* CGC---ACCTCAGCAGCACCATCTCCACATACTCCGCGCACACCGCGCACTCAAGCCAC 417  
*OfBR-C* CGGGCTACAACCGCGGCACCGCCCCCTCATAAGCCTCTCACCCGCGCATACCCGCGAC 378  
 \*\* : \* : \* \* \* \* \* : \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* : \*

*BmBR-C* ATACCGCAACC-----CTACCCTGACAACTCGAGGAAGCTCTTCTTCAACCCTCATCC 468  
*MsBR-C* ATGCCACACACGCCCAATTACACCGAGAACTCGAGGAGGCCCTCCTCAACCATCCTCT 477  
*OfBR-C* GCTGCGCACACGCCGAGCTACACCAAGAGCTGGAGGAAGCACT-CACAAATCCCC--CC 435  
 . \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* : \* \* \* \*

*BmBR-C* AGCATCCCGCCCATGATGCGCCGATTCTCTTCTTCCACCGCGACGTATGAG--CTCC 525  
*MsBR-C* AGCGTGCCGCCGATGATGCGCAGGATCCCGCTGCGGCCCGCGCGCATGAGCAGCTCA 537  
*OfBR-C* AGC-----CACGGGATGCGCCGATTCTCT---TCCCCACGACGTATGAGCCGCTCC 486  
 \*\* \* . \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* ACTGATAACTCGCCTGACGTCATAAAGCGTCCACGTACGACAACAACACACAGAATCC 585  
*MsBR-C* GCAGACAAC TCCCTGACGTCATCAAGCGCCCGCGCCACGACAACAATACGAACAG--- 594  
*OfBR-C* GAAGACTACTCGCAAGATGTCATCAAGCGCCCGCTCATGACAACAATATGAGCAG--- 543  
 .. : \* : \* \* \* \* \* : \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

*BmBR-C* CCACAAATGCACGCCGCTGACTTCTCGACCAAGAACCAC--- 624  
*MsBR-C* CCACAGATACATGCAGCAGACTTCTCCACAAAGAACCAC--- 633  
*OfBR-C* CCACAAATCCACG-----ACTTCTCAAG-AAGCACAACAAA 579  
 \*\*\*\*\* \*\* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \* \*

ภาพที่ 4.11 แสดงการเปรียบเทียบลำดับเบสของ *OfBR-C* เปรียบเทียบกับยีน *BR-C* ในหนอนใหม่

(*BmBR-C*, accession no. AB166727.1) และยีน *BR-C* ในหนอนใบชาสุบ (*MsBR-C*, accession no. AF032676.1) (สีฟ้า) แสดงตำแหน่งของไพรเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับเบสของยีน

*BmBR-C* MVDSQTQHFCLRWNNYQRSITSAFENLRDDED **FVDVTL**ACDGKSLKAHRVVL SACSPYFR 60  
*OfBR-C* ----- **FVDVTL**ACDGKSLKAHRVVL SACSPYFR 28  
*MsBR-C* MVESQTQHFCLRWNNYQRSITSAFENLRDDED **FVDVTL**ACDGKSLKAHRVVL SACSPYFR 60  
 \*\*\*\*\*

*BmBR-C* ELLKSTPCKHPVIVLQDVAYTDLHALVEFIYHGEVNVHQHSLSSFLKTAEVL RVSGLTHN 120  
*OfBR-C* ELLKSTPCKHPVIVLQDVAYTDLHALVEFIYHGEVNVHQHSLSSFLKTAEVL RVSGLTHN 88  
*MsBR-C* ELLKSTPCKHPVIVLQDVAFDTDLHALVEFIYHGEVNVHQHSLSSFFKTAEVL RVSGLTHN 120  
 \*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*

*BmBR-C* DAAQ-GPLLQTMRSSAAPSPHTPPHPAHSTHIPQP--YDPKLEEALLQPSSSI PPMMRI 177  
*OfBR-C* DAAQ-GPLLQTMRSSAAPSPHTPPHPAHSTHIPQP--YDPKLEEALLQPSSSI PPMMRI 145  
*MsBR-C* DGAQTAPLLQTMRTSAAPSPHTPPHTAHSSHPHTPNYTEKLEEALLQPSSSV PPMMRI 180  
 \*.\*\* .\*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*.\*\*\*:\*.:. \*:\*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*

*BmBR-C* PLPPPRRMSS-TDNSPDVIKR **PRHDNN**TESPQMHAADFSTKNHSILNSRGH-EQGNGN 235  
*OfBR-C* PLPPPRRMSS-TDNSPDVIKR **PRHDNN**----- 171  
*MsBR-C* PLPPPRRMSSADNSPDVIKR **PRHDNN**-EQPQIHAADFSTKNHSMVNNRAHAEPGNGN 239  
 \*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*

*BmBR-C* GISNSSSSPSRLMDEVKNEPVDMICSPNPDIRCTDDTPPHTHHRPIGG-PPSRSSAD 294  
*OfBR-C* -----  
*MsBR-C* GISNSSSSPSRLIDEVKNEPLDMICSPNPDIRSTDTPPHSHHRPMGGGPPSRGSSAD 299

*BmBR-C* AEDRTPPPQLPPSPFI PPPDTKLFNPSNSYNFTMEALAQHSTLAGLQSP LASDGMAS TSQ 354  
*OfBR-C* -----  
*MsBR-C* AEDRTPPPQLPPSPFI PPPDTKLFNPSNTYNFTMEALTQHPGLTNLQSP LASDGMAS TSQ 359

*BmBR-C* VGPLGAGHRCEVCGKLLSTRLT LKRHTEQQHLQPLHSARCTLCHKVFRTLNSLNNHKS IY 414  
*OfBR-C* -----  
*MsBR-C* VGPLGAGHRCEVCGKLLSTRLT LKRHTEQQHLQPLHSARCSLCHKVFRTLNSLNNHKS IY 419

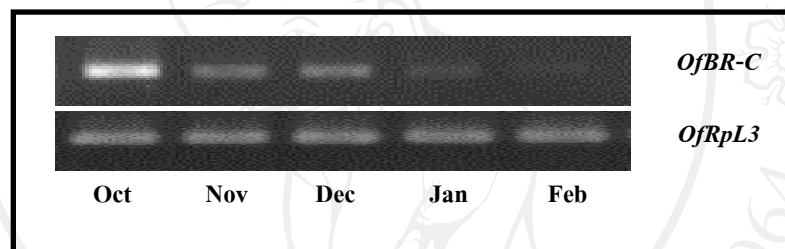
*BmBR-C* HRRQRNPPLSQPNLSTAPEPKLNPPHHNIDFYKFKDQFNV 456  
*OfBR-C* -----  
*MsBR-C* HRRQR-APHQPQPNLTTSPTDKIN-PQHNIDFYKFKDQFNV 459

ภาพที่ 4.12 แสดงการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ *OfBR-C* เปรียบเทียบกับยีน *BR-C* ในหนอนใหม่ (*BmBR-C*, accession no. AB166727.1) และยีน *BR-C* ในหนอนใบยาสูบ (*MsBR-C*, accession no. AF032676.1) (สีฟ้า) แสดงตำแหน่งของไพรเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับกรดอะมิโนของยีน

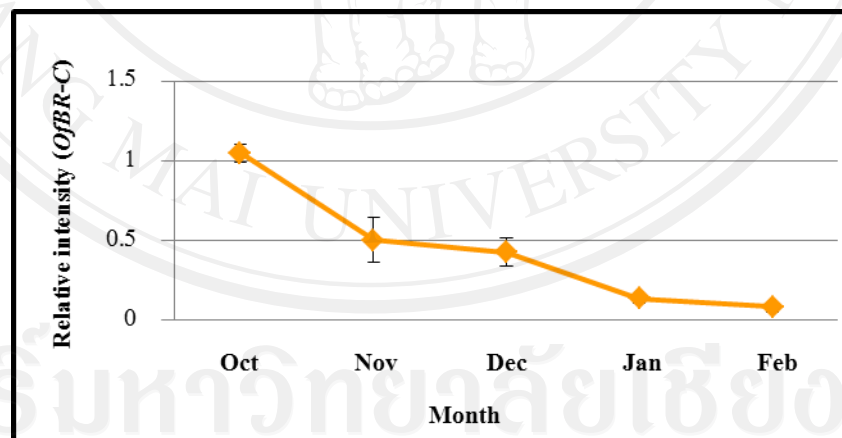
#### 4.4.2 ผลการแสดงออกของ *OfBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ระยะโตอะพอสตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์

โดยปกติแล้วการแสดงออกของยีน *BR-C* ในแมลงชนิดอื่นที่อยู่ในระยะตัวหนอนจะมีการแสดงออกของยีนสูง จากนั้นระดับการแสดงออกของยีน *BR-C* จะค่อยๆ ลดลงเมื่อตัวหนอนมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์การแสดงออกของ *OfBR-C* ของหนอนในธรรมชาติ ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยใช้เทคนิค semi-qualitative PCR (ภาพที่ 4.13 ก) ซึ่งผลจากการวิเคราะห์การแสดงออกพบว่า ในเดือนตุลาคมจะมีการแสดงออกของยีนสูง ถัดมาตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคมจะพบว่ายีนจะเริ่มมีการแสดงออกลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งในเดือนกุมภาพันธ์พบว่ายีนมีการแสดงออกน้อยที่สุด ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับที่ว่าการแสดงออกของยีน *BR-C* จะมีค่าลดลงเมื่อตัวหนอนจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นดักแด้ (ภาพที่ 4.13 ข)

(ก)



(ข)



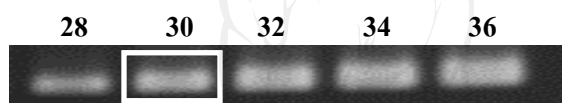
ภาพที่ 4.13 การแสดงออกของ *OfBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่รายเดือน

(ก) แสดงแถบดีเอ็นเอของ *OfBR-C* และ *OfRpL3*

(ข) แสดงค่า intensity ที่วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของ *OfBR-C*

#### 4.4.3 ผลของฮอร์โมนจูวีนัลต่อการแสดงออกของ *OfBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส

การที่พบว่าการแสดงออกของยีน *OfBR-C* ของระยะตัวหนอนในเดือนกุมภาพันธ์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการแสดงออกของยีน *OfBR-C* ของระยะตัวหนอนในเดือนตุลาคม แสดงให้เห็นว่าการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นนี้อาจสัมพันธ์กับปริมาณของฮอร์โมนเอคโดไซนที่เพิ่มขึ้น จึงได้มีการศึกษาผลของฮอร์โมนจูวีนัลต่อการแสดงออกของยีน *OfBR-C* โดยทำการศึกษากการแสดงออกของ *OfBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่หลังจากได้รับฮอร์โมน JHA เป็นเวลา 0 2 4 6 8 10 และ 12 วัน จนกระทั่งหนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ (G0-G3) ในขั้นตอนแรกจะทำการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *OfRpL3* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ก่อน ซึ่งใช้เป็น internal standard หรือ reference gene ในการทำ semi-qualitative PCR แล้วหาจำนวนรอบที่เหมาะสมต่อการแสดงออกของยีนโดยการทำ PCR และนำแถบของดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอ (band intensity) พบว่าจำนวนรอบที่เหมาะสมในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *OfRpL3* และ *OfBR-C* คือ จำนวน 30 รอบเท่ากัน (ภาพที่ 4.14)



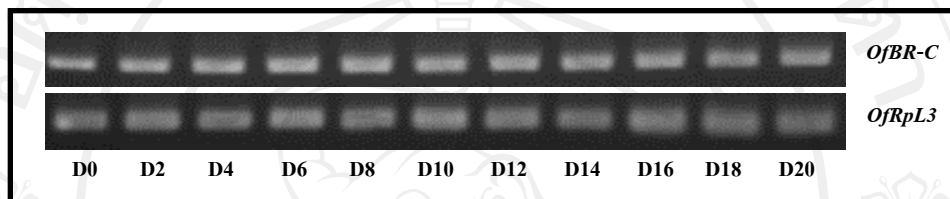
ภาพที่ 4.14 แสดงจำนวนรอบที่เหมาะสมของ *OfRpL3* และ *OfBR-C* ในการทำ PCR

หลังจากนั้นจึงทำ semi-qualitative PCR เพื่อดูการแสดงออกของยีน *OfBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส โดยใช้ specific primer ของยีน *OfBR-C* ที่มีขนาด 513 bp ได้ผลดังต่อไปนี้

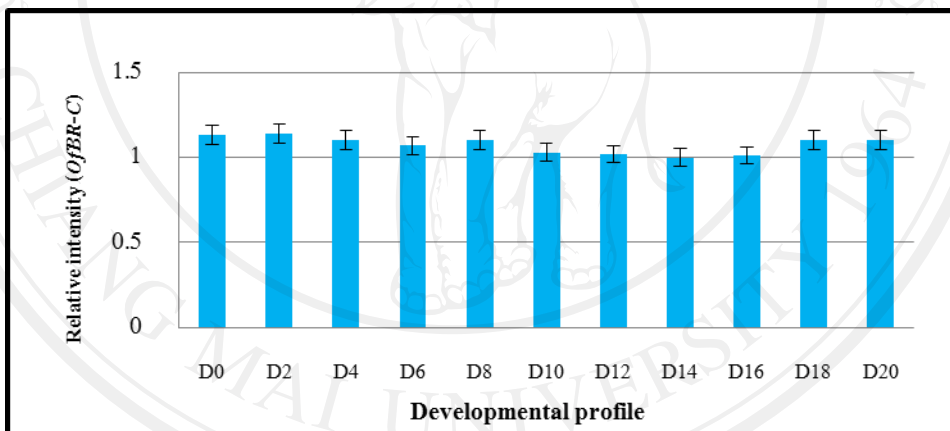
### 1) กลุ่มควบคุม

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *OjBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของกลุ่มควบคุม โดยที่ ภาพ ก เป็นภาพที่ได้จากการทำเจลอิเล็กโทรโฟเรซิสเมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* กับ *OjRpL3* ที่ได้ ส่วนภาพ ข เป็นภาพที่นำโปรแกรมมาคำนวณความเข้มของแถบดีเอ็นเอ (โดยค่า relative intensity หาได้จากค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอ *OjBR-C*/ค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอ *OjRpL3*) พบว่าระดับการแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ที่ได้จะมีค่าไม่แตกต่างกันตลอดการเป็นระยะไคอะพอซของหนอนเชื้อไฟ ( $P>0.05$ ) (ภาพที่ 4.15)

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.15 การแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟของกลุ่มควบคุม

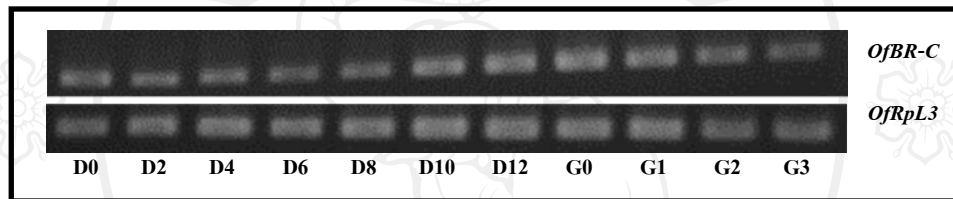
(ก) แสดงแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* และ *OjRpL3*

(ข) แสดงค่า intensity ที่วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C*

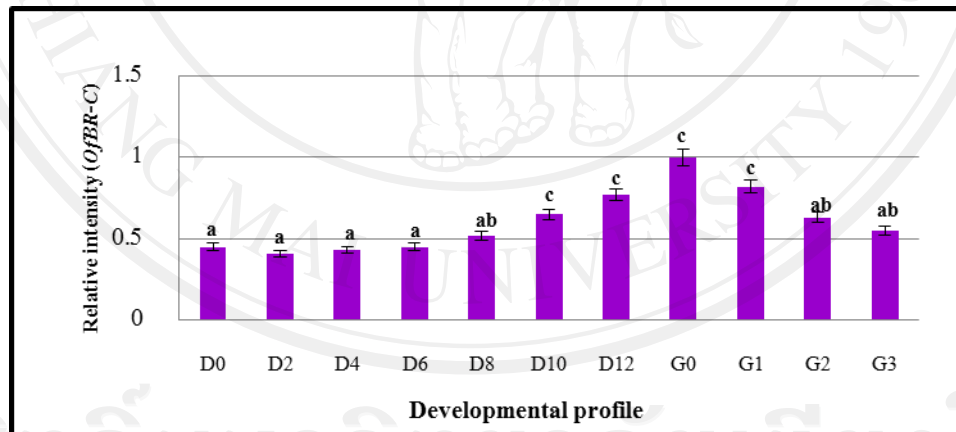
## 2) กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *OjBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร โดยที่ ภาพ ก เป็นภาพที่ได้จากการทำเจลอิเล็กโทรโฟเรซิสเมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* กับ *OjRpL3* ที่ได้ ส่วนภาพ ข เป็นภาพที่นำโปรแกรมมาคำนวณความเข้มของแถบดีเอ็นเอ พบว่าระดับของ *OjBR-C* mRNA ในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 6 จะอยู่ในระดับเดียวกัน จากนั้นในวันที่ 10 จนถึงวันที่ 12 ระดับการแสดงออกของยีนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นและในระยะเวลา G0 และ G1 ระดับการแสดงออกของยีนจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวหนอนกำลังจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นดักแด้ จนกระทั่งในระยะเวลา G2 จนถึงระยะ G3 พบว่าการแสดงออกของยีนจะค่อยๆ ลดลง (ภาพที่ 4.16)

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.16 การแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเยื่อไผ่ของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

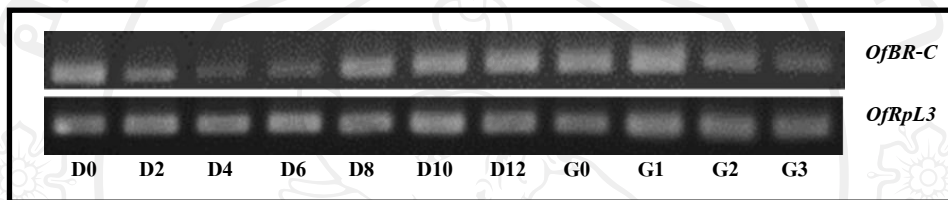
(ก) แสดงแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* และ *OjRpL3*

(ข) แสดงค่า intensity ที่วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C*

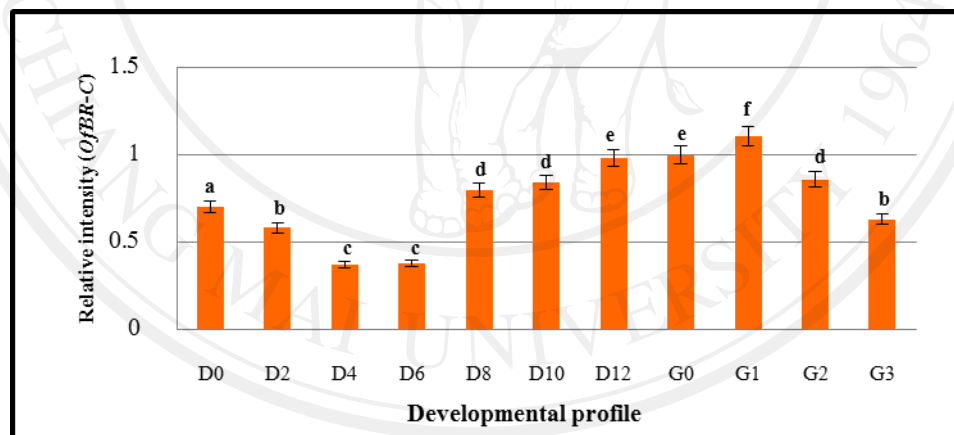
### 3) กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *OjBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร โดยที่ ภาพ ก เป็นภาพที่ได้จากการทำเจลอิเล็กโตรโฟเรซิสเมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* กับ *OjRpL3* ที่ได้ ส่วนภาพ ข เป็นภาพที่นำโปรแกรมาคำนวณความเข้มของแถบดีเอ็นเอ พบว่าระดับการแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ในวันที่ 4 จนถึงวันที่ 6 จะมีการแสดงออกน้อย ต่อมาในวันที่ 8 จนถึงวันที่ 12 ยีนจะมีการแสดงออกค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนในระยะ G1 ระดับการแสดงออกของยีนจะเพิ่มสูงขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และในระยะ G2 จนถึงระยะ G3 พบว่าการแสดงออกของยีนจะค่อยๆ ลดลง (ภาพที่ 4.17)

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.17 การแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไผ่ของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

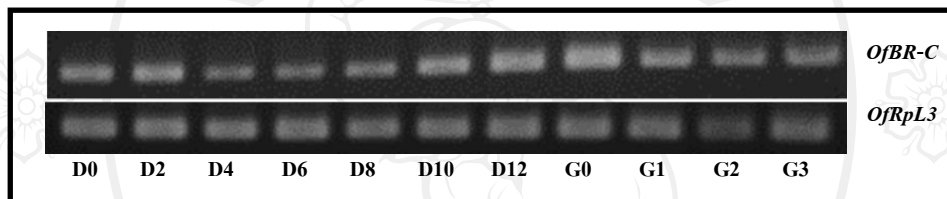
(ก) แสดงแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* และ *OjRpL3*

(ข) แสดงค่า intensity ที่วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C*

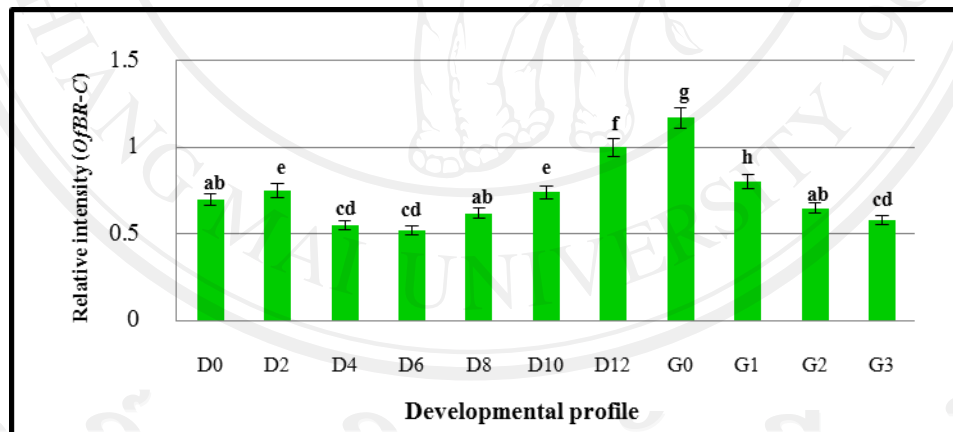
#### 4) กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *OjBR-C* ในเนื้อเยื่อต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร โดยที่ ภาพ ก เป็นภาพที่ได้จากการทำเจลอิเล็กโทรโฟเรซิสเมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* กับ *OjRpL3* ที่ได้ ส่วนภาพ ข เป็นภาพที่นำโปรแกรมมาคำนวณความเข้มของแถบดีเอ็นเอ พบว่าระดับของ *OjBR-C* mRNA ในวันที่ 4 จนถึงวันที่ 6 จะมีการแสดงออกน้อย ต่อมาในวันที่ 8 จนถึงวันที่ 12 ระดับการแสดงออกของยีนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น และในระยะ G0 การแสดงออกของยีนจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวหนอนจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นดักแด้ จนกระทั่งในระยะ G1 จนถึงระยะ G3 พบว่าการแสดงออกของยีนจะค่อยๆ ลดลง (ภาพที่ 4.18)

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.18 การแสดงออกของ *OjBR-C* mRNA ในต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นของหนอนเชื้อไฟ

ของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน JHA ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร

(ก) แสดงแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C* และ *OjRpL3*

(ข) แสดงค่า intensity ที่วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของ *OjBR-C*