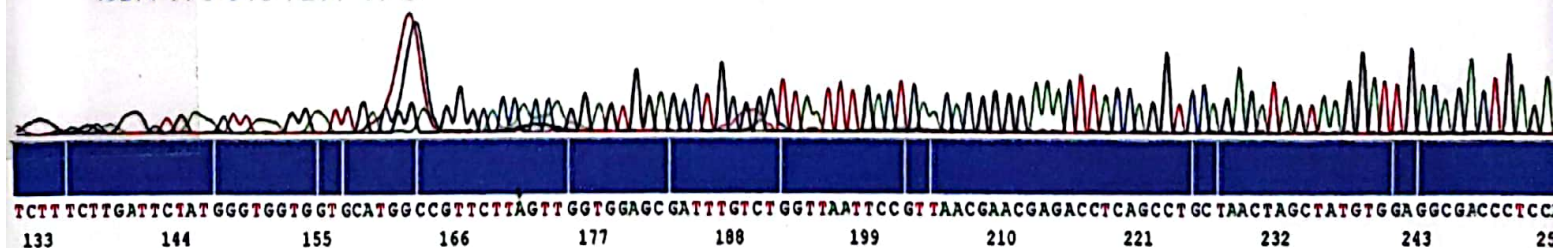


การวิเคราะห์ความหลากหลายของพืช โดยวิธีอณูชีววิทยา



ผศ.ดร.ฤทธิ วัฒนชัยยิ่งเจริญ
คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ISBN 978-616-7299-19-8



สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1	
สารพันธุกรรม	1
นิวคลีโอไทด์และกรดนิวคลีอิก	1
โครงสร้างของกรดนิวคลีอิก	5
อาร์เอ็นเอหรือกรดไรโบนิวคลีอิก	7
ดีเอ็นเอหรือกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก	7
โครงสร้างของดีเอ็นเอ	8
คุณสมบัติของกรดนิวคลีอิก	9
รหัสพันธุกรรม	11
ความหมายของรหัสพันธุกรรม	12
การลอกแบบพันธุกรรม	13
การลอกรหัสพันธุกรรมหรือการสังเคราะห์ RNA	14
การแปลรหัสพันธุกรรม	16
บทที่ 2	
วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต	18
พันธุศาสตร์ประชากร	19
วิวัฒนาการระดับจุลภาค	21
การเคลื่อนย้ายพันธุกรรม	21
การอพยพ	22
การกลายพันธุ์	22
การคัดเลือกโดยธรรมชาติ	23
การคัดเลือกประชากรมั่นคง	24
การคัดเลือกประชากรตามแนวโน้	24
การคัดเลือกประชากรที่แตกออก	24
การผสมพันธุ์แบบเลือกลักษณะ	24
วิวัฒนาการระดับมหภาค	24
รูปแบบวิวัฒนาการ	25
วิวัฒนาการแยกจาก	25

วิวัฒนาการเข้าหา	26
วิวัฒนาการขนาน	26
การกำเนิดชนิดหรือสปีชีส์	26
การแยกด้วยสภาพภูมิประเทศ	27
การลดลงของการไหลของยีน	27
บทที่ 3 ความหลากหลายทางชีวภาพ	28
ความหลากหลายทางชีวภาพ	29
ความหลากหลายทางพันธุกรรม	30
สาเหตุแห่งความหลากหลายทางพันธุกรรม	31
ความหลากหลายชนิดของสิ่งมีชีวิต	31
สาเหตุความหลากหลายชนิดของสิ่งมีชีวิต	32
ความหลากหลายทางนิเวศวิทยา	33
ความสำคัญของความหลากหลายทางชีวภาพ	34
การกลายพันธุ์	35
ปัจจัยที่มีผลต่อการกลายพันธุ์	35
รังสี	35
สารเคมี	38
กลไกการกลายพันธุ์	38
การกลายพันธุ์ของพืช	39
การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อโครงสร้าง	40
การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อนิวคลีโอไทด์	40
การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อโครงสร้างของโครโมโซม	42
การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อระบบการทำงาน	43
การกลายพันธุ์แบบบอัสฐาน	43
การกลายพันธุ์ที่เปลี่ยนแปลงการทำงานของผลผลิต	43
การกลายพันธุ์ที่มีลักษณะเด่นทางลบ	43
การกลายพันธุ์แบบฆ่าตัวตาย	43
การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก	44
การแปรปรวนของจำนวนโครโมโซม	44
การแปรปรวนของจำนวนชุดโครโมโซม	44

บทที่ 4	ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	45
	สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	47
	บัฟเฟอร์	47
	แมกเนเซียมคลอไรด์	47
	ดีออกซีนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟส	47
	สารยับยั้งและเพิ่มประสิทธิภาพของปฏิกิริยา	48
	ไพรเมอร์	49
	ดีเอ็นเอต้นแบบ	51
	การเลือกใช้เอนไซม์ของปฏิกิริยา	52
	DNA polymerase	53
	DyNAzyme™ EXT DNA polymerase	54
	Taq/Amplitaq DNA polymerase	54
	Tth DNA polymerase	55
	Vent DNA polymerase	55
	Pfu DNA polymerase	56
	Pwo DNA polymerase	57
	UITma DNA polymerase	57
	Platinum Taq DNA polymerase	57
	Phusion™ DNA polymerase	57
	KOD polymerase	58
	Klenow fragment	58
	Bacteriophage T4 DNA polymerase	58
	LongAmp™ Taq DNA polymerase	59
	Phire™ Hot Start DNA polymerase	59
	Crimson Taq™ DNA polymerase	59
	Deep Vent [®] DNA polymerase	59
	สภาวะของปฏิกิริยา	60
	การตรวจวิเคราะห์ผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	61
	การติดตามผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	62
	การตรวจวัดผลผลิตแบบไม่จำเพาะต่อลำดับนิวคลีโอไทด์	63
	Agarose gel /polyacrylamide gel electrophoresis	63

High performance liquid chromatography (HPLC)	63
Solid-Phase Assays	64
Scintillation proximity assay	64
การตรวจวัดผลผลิตแบบจำเพาะต่อลำดับนิวคลีโอไทด์	65
การหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยตรง	65
การตรวจวัดด้วยการติดฉลากเรืองแสง	66
การตรวจวัดด้วยปฏิกิริยาในระบบภูมิคุ้มกัน	66
บทที่ 5 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ	68
วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ เครื่องใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	68
เครื่องมือ	68
PCR machine or Thermal cycler	68
อิเล็กโทรโฟริซิส	71
เครื่องปั่นฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ	72
เทคนิคการใช้เครื่องปั่นฆ่าเชื้อ	73
ความปลอดภัยในการใช้เครื่องปั่นฆ่าเชื้อ	74
ตู้อบความร้อน	75
Micropipette	75
UV-transilluminator	76
ตู้ชีวนิรภัย	77
ตู้ชีวนิรภัยระดับ 1	78
ตู้ชีวนิรภัยระดับ 2	79
ตู้ชีวนิรภัยระดับ 3	82
การใช้งานตู้ชีวนิรภัย	82
วัสดุในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	83
PCR tube หรือ Microcentrifuge tube	83
Micropipette tip	84
บทที่ 6 การศึกษาความหลากหลายของพืช	85
การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	85
ยีนไมโทเอ็นเอ	86

Nuclear ribosomal DNA	86
ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ และดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย	88
Ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase	89
RNA polymerases C1, C2	89
Cytochrome C	90
tRNA-Leu gene	90
Lysine tRNA gene	90
Maturase gene	91
Cytochrome c gene	92
<i>psaA</i> and <i>psbB</i>	92
Microsome Ω -3 fatty acid desaturase	92
Random Amplified Polymorphic DNA or Polymerase Chain Reaction by Arbitrarily Chosen Primers	93
Simple Sequence Repeat PCR หรือ Inter- Simple Sequence Repeat PCR	96
Sequence Characterized Amplified Region	98
Random Amplified Microsatellite Polymorphism	100
Amplified Fragment Length Polymorphisms	100
Sequence-Related Amplified Polymorphism	102
Direct Amplification of Length Polymorphism	103
Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism	103
Cleaved Amplified Polymorphic regions	104
Single Nucleotide Polymorphisms	105
Polymerase Chain Reaction Single-Strand Conformation Polymorphism	105
บทที่ 7 การตรวจวิเคราะห์ผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	106
เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส	106
อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบเจลอะกาโรส	107
การเตรียมสารละลาย TAE, TBE และ TPE	109
การทำให้เจลอะกาโรสแข็งตัว	109
การเตรียมเจลอะกาโรสตามแนวนอน	110
การเตรียมเจลอะกาโรสตามแนวตั้ง	111

การประกอบดัดแปลงและการยัดดัดแปลง	111
การทำให้เจลแข็งตัว	111
เตรียมสำหรับวิเคราะห์อีเล็กโทรโฟรีซิส	112
การใส่ตัวอย่างดีเอ็นเอ	112
สารละลาย Loading buffer	113
อีเล็กโทรโฟรีซิสแบบเจลพอลิอะคริลามายด์	113
การย้อมเจล	115
การย้อมดีเอ็นเอด้วย SYBR Green	115
ขั้นตอนการย้อมดีเอ็นเอด้วย SYBR Green	115
วิธีการย้อมดีเอ็นเอด้วยสารละลาย SYBR Green	116
การย้อมดีเอ็นเอบนอะกาโรสหรือพอลิอะคริลามายด์ด้วยเอทิลเดียมโบรไมด์	117
วิธีย้อมดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสด้วยเอทิลเดียมโบรไมด์	118
วิธีย้อมดีเอ็นเอบนแผ่นพอลิอะคริลามายด์ด้วยเอทิลเดียมโบรไมด์	118
การย้อมดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสด้วย Methylene blue หรือ Acridine orange	119
วิธีย้อมดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสด้วยสี Methylene blue	119
วิธีย้อมดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสด้วยสี Acridine orange	119
การย้อมดีเอ็นเอบนแผ่นพอลิอะคริลามายด์ด้วยสารโลหะเงิน	120
วิธีย้อมดีเอ็นเอบนแผ่นพอลิอะคริลามายด์ด้วยสารโลหะเงิน	120
Southern blotting	121
Depurination	122
บทที่ 8	
การเตรียมตัวอย่างพืช	123
การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษา	124
การสกัดแยกดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิต	125
เซลล์ยูคาริโอต	125
การสกัดโครโมโซมดีเอ็นเอของพืช	126
Plant DNA Extraction	127
DNA extraction	127
CTAB extraction	128
DNA extraction from plant containing high polysaccharide by CTAB	131
DNA extraction from latex-containing plants by CTAB	133

	DNAzol Genomic DNA isolation reagent	135
	NucleoSpin® Plants	137
	Whatman FTA® Cards	138
บทที่ 9	การวิเคราะห์ความหลากหลาย	139
	RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)	139
	DAF (DNA Amplification Fingerprinting)	140
	Microsatellites or Simple Sequence Repeats	141
	Random Amplified Microsatellite Polymorphism	142
	Direct Amplification of Length Polymorphisms	143
	Sequence-Related Amplified Polymorphism	145
	Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism	146
	การวิเคราะห์โดยใช้ยีน <i>matK</i>	146
	Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences	148
	Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP)	150
บทที่ 10	ชีวสารสนเทศสำหรับความหลากหลายของพืช	153
	ฐานข้อมูลทางอณูชีววิทยابนอินเทอร์เน็ต	154
	การวิเคราะห์ข้อมูลทางอณูชีววิทยา โดยโปรแกรมบนอินเทอร์เน็ต	158
	วิธีการสืบค้นข้อมูล	175
บรรณานุกรม		185
ดัชนี		197