โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในกลุ่มไฮบริดฮิสทิดีนไคเนส ภายใต้ภาวะความเครียดจากเกลือใน *Halothece* sp. PCC7418

ชื่อนิสิต นางสาวพัชร์สิตา ศิรยศอลงกรณ์ รหัสประจำตัว 6032335223

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในกลุ่มไฮบริดฮิสทิดีนไคเนส ภายใต้ภาวะความเครียดจากเกลือใน *Halothece* sp. PCC7418

Gene expression analysis of hybrid histidine kinase in cyanobacteria *Halothece* sp. PCC 7418 under salt stress condition

ชื่อนิสิต นางสาวพัชร์สิตา ศิรยศอลงกรณ์ รหัสประจำตัวนิสิต 6032335223

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อโครงงาน	การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในกลุ่มไฮบริดฮิสทิดีนไคเนส ภายใต้ภาวะความเครียดจากเกลือใน *Halothece* sp. PCC7418
โดย	นางสาวพัชร์สิตา ศิรยศอลงกรณ์ รหัสประจำตัวนิสิต 6032335223
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน	รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาดิถี สิริศรัทธา
ปีการศึกษา	2563

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2312499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา

(ศาสตราจารย์ ดร. ธนาภัทร ปาลกะ)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน

(รองศาตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาดิถี สิริศรัทธา)

..... กรรมการ

(รองศาตราจารย์ ดร.ปาหนัน เริงสำราญ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในกลุ่มไฮบริดฮิสทิดีนไคเนส ภายใต้ภาวะความเครียดจากเกลือใน *Halothece* sp. PCC7418

Gene expression analysis of hybrid histidine kinase in cyanobacteria *Halothece* sp. PCC 7418 under salt stress condition

นิสิตในโครงการ

นางสาวพัชร์สิตา ศิรยศอลงกรณ์

รหัสประจำตัวนิสิต 6032335223

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาดิถี สิริศรัทธา

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ปีการศึกษา 2563

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในกลุ่มไฮบริดฮิสทิดีนไคเนส ภายใต้ภาวะความเครียดจากเกลือใน *Halothece* sp. PCC7418

นิสิตผู้เสนอโครงการ นางสาวพัชร์สิตา ศิรยศอลงกรณ์ รหัสประจำตัวนิสิต 6032335223

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งอรุณ วาดิถี สิริศรัทธา

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ไซยาโนแบคทีเรียประเภทเอ็กซ์ทรีโมไฟล์ (extremophile) มีความสามารถในการปรับตัวเพื่อให้อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่สุดขั้วที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ปัจจัยด้านความเค็มเป็นหนึ่งในปัญหาจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตที่สามารถส่งผลกระทบต่อเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย เมื่ออาศัยอยู่ภายในสภาพแวดล้อมที่ได้รับความเค็มในปริมาณสูงหรือได้รับเป็นเวลานานก่อให้เกิดความเครียดภายในเซลล์ได้ส่งผลให้เซลล์ต้องมีการปรับตัวเพื่อรับมือกับความเครียดเพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้น โดยการแสดงออกของยีนบางกลุ่มที่มีความสามารถในการควบคุมสมดุลของปฏิกริยาภายในเซลล์ให้เป็นไปตามปกติ *Halothece sp.* PCC7418 เป็นเอ็กซ์ทรีโมไฟล์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีระบบ Two-Component System (TCS) ซึ่งเป็นระบบของโปรตีนที่ใช้ในการแสดงออกของเซลล์และยีนต่าง ๆ ในการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมภายนอกเซลล์ ประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ Histidine kinase (HK) เป็นการทำงานร่วมกันของ Dimerization and phosphor-acceptor (HisKA), Histidine kinase ATPase (HATPase) Response regulator (RR) ที่เป็นการทำงานของ Aspartate-containing receiver ซึ่งเมื่อ Histidine kinase ทำงานร่วมกับ Response regulator ทำให้เกิดกลุ่มของยีนที่เรียกว่า ไฮบริดไคเนส (HyK) จากการสืบค้นข้อมูลพบว่ามียีนจำนวน 13 ยีนที่คาดว่าเป็นยีนในกลุ่มนี้ ได้แก่ PCC7418_0473, PCC7418_0496, PCC7418_0613, PCC7418_0909, PCC7418_1045, PCC7418_1124, PCC7418_1191, PCC7418_1731, PCC7418_1732, PCC7418_2221, PCC7418_2725, PCC7418_2951, PCC7418_3814 ภาวะที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ การให้ความเครียดจากความเค็มที่ความเข้มข้น NaCl 2 โมลาร์ เป็นเวลา 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการแสดงออกของยีนได้โดยการนำมาสกัด RNA และเปลี่ยนเป็น cDNA ที่ความเข้มข้น 2500 นาโนกรัม นำไปรันเจลอิเล็กโทรโฟลิซิสเพื่อตรวจสอบผลลัพธ์ที่ได้ พบว่าการแสดงออกของยีนในกลุ่มนี้มีความแตกต่างกันโดยการแสดงออกของยีนแต่ละชนิด มีค่าไม่เท่ากันจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาต่อในอนาคตถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการแสดงออกของยีนแต่ละตัว

Project title Gene expression analysis of salt sensor (hybrid kinase) in cyanobacteria *Halothece* sp. PCC 7418 under salt stress condition

Investigator Miss Patsita Sirayot-alongkon student ID 6032335223

Project advisor Associate Professor Rungaroon Waditee-Sirisattha, Ph.D.

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

Extremophillic cyanobacteria have the ability to adapt to the extreme environments that are unsuitable for life. Salinity is one of abiotic stresses that can affect the cells, living in an environment that is exposed to high levels of salinity or for a long time can cause intracellular stress. That means the cells need to adjust themselves to cope with stress to prevent damage, by the expression of genes capable of regulating the equilibrium of normal intracellular reactions. *Halothece sp.* PCC 7418 is an extremophillic cyanobacteria that employ two-component system proteins to regulate cell activities and gene expression in response to the environmental changes. The two-component system consists of two types of proteins, histidine kinases (HK) and response regulators (RR) which are classified by the specificity of signatures domain in their structures. HisKA (dimerization and phospho-acceptor) and HATPase (histidine kinase ATPase) domain are known as component of HK and, aspartate-containing receiver domain are found in response regulators protein. The function co-operated by the three domain proteins is called hybrid kinase (HyK). From the entire genome analysis of *Halothece sp.* PCC7418, 13 putative genes encoding HyK were found. There are PCC7418_0473, PCC7418_0496, PCC7418_0613, PCC7418_0909, PCC7418_1045, PCC7418_1124, PCC7418_1191, PCC7418_1731, PCC7418_1732, PCC7418_2221, PCC7418_2725, PCC7418_2951, PCC7418_3814. The condition used in this study was salinity stress at NaCl 2 M concentration for 0, 1, 3, 6 hours. The gene expression effect was investigated by RNA extraction and conversion to cDNA at 2500 ng. concentration, was run with a gel electrophoresis to verify the results. The result show that expression level of genes in this group was differed.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร. รุ่งอรุณ วาดิถี สิริศรัทธา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษา ทั้งในด้านการวางแผนการทดลอง, การดำเนินการทดลอง และการอภิปรายผลการทดลอง รวมถึงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ มาโดยตลอด อันเป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัยตลอดทั้งโครงการ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ในรายวิชาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ บุคลากรภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ ตลอดโครงการ

ขอขอบคุณพี่ๆ ในห้องวิจัย 1904/17 พี่บุ๋ม พี่มุก พี่คริส และพี่ๆ ห้องวิจัยอื่นๆ ในภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษา ตลอดจนถ่ายทอดเทคนิค วิธีการทดลองอันเป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัยตลอดทั้งโครงการ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ นิสิตภาควิชาจุลชีววิทยา รุ่นที่ 44 ทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาระหว่างการดำเนินการวิจัยตลอดทั้งโครงการ

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่ให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอ

ขอขอบคุณสมาชิก GOT7 ทั้งเจ็ดคน แจบอม มาร์ค แจ็ตสัน จินยอง ยองแจ แบมแบม ยูคยอม และอีอึยอุง ที่เป็นที่ยึดเหนี่ยวจิตใจตลอดการวิจัยนี้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และชุดทดสอบสำเร็จ	8
2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	8
2.2 เคมีภัณฑ์	9
2.3 ชุดทดสอบสำเร็จ	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	11
3.1 การวิเคราะห์ชีวสารสนเทศของ Hybrid Kinase (HyK) ใน *Halothece* sp. PCC7418	11
3.1.1. การสืบค้นยีนใน *Halothece* sp. PCC7418 ที่เคาดว่าเป็นยีนในกลุ่ม HyK	11
3.1.2. การหา Domain Architecture ของยีนที่ได้	11
3.1.3. การหาลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีนที่ได้จากการสืบค้นจากฐานข้อมูล	11
3.2 การออกแบบไพรเมอร์	12
3.3 การเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 ในภาวะปกติ	12
3.3.1 อาหารและภาวะในการเลี้ยง	12
3.3.2 การติดตามการเจริญ	12
3.4 การเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 ภายใต้ภาวะเครียด	13
3.4.1 การเก็บตัวอย่างเซลล์ เพื่อเปลี่ยนจากการเลี้ยงในภาวะปกติเป็นภาวะเครียด	13

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
3.5 การสกัด total RNA และการเปลี่ยนให้เป็น cDNA	13
3.5.1 การสกัด total RNA	13
3.5.2 การตรวจสอบคุณภาพของ RNA ด้วยการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิส	14
3.5.3 การเปลี่ยน RNA เป็น cDNA	14
3.6 semi-quantitative RT-PCR	15
บทที่ 4. ผลการทดลอง	16
4.1 ชีการวิเคราะห์ชีวสารสนเทศของ HyK ใน *Halothece* sp. PCC7418	16
4.1.1. การสืบค้นยีนใน *Halothece* sp. PCC7418 ที่คาดว่าจะเป็นยีนในกลุ่ม HyK	16
4.1.2. Domain Architecture ของโปรตีน HyK	16
4.1.3. การหาลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีนที่ได้จากการสืบค้นจากฐานข้อมูล	16
4.2 การออกแบบไพรเมอร์	16
4.3 การสกัด total RNA จากไซยาโนแบคทีเรีย *Halothece* sp. PCC 7418	27
4.4 การเปลี่ยน RNA เป็น cDNA จากไซยาโนแบคทีเรีย *Halothece* sp. PCC 7418	29
4.6 การทำ semiquantitative RT-PCR	30
บทที่ 5. สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก ก.	34
สูตรอาหาร BG-11+turk solution สำหรับเลี้ยงเชื้อภายใต้ภาวะปกติ	34
สูตรอาหาร BG-11+turk solution สำหรับเลี้ยงเชื้อภายใต้ภาวะเครียดจากเกลือ	35
การเตรียม 10X tris-Acetate-EDTA (TAE)	36
การเตรียม 1.2% agarose gel	36
การเตรียม 0.1% DEPC water	36
ภาคผนวก ข.	37
ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกลุ่ม HyK ใน *Halothece* sp. PCC7418	37

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1.1 โครงสร้างของไซยาโนแบคทีเรีย 2
1.2 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 1 3
1.3 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 2 4
1.4 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 3 5
1.5 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 4 5
1.6 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 5 6
1.7 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 6 6
1.8 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 7 6
4.3.1 เจลอิเล็กโตรโฟริสิสของ RNA ที่สกัดได้จาก *Halothece* sp. PCC7418 ภายใต้ภาวะปกติ 27
4.3.2 เจลอิเล็กโตรโฟริสิสของ RNA ที่สกัดได้ภายใต้ภาวะที่ได้รับความเครียด 28
4.4.1 RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ *rnpB* ที่จำนวน 30 รอบ 29

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 Domain Architecture ของยีนในกลุ่ม HyK 17

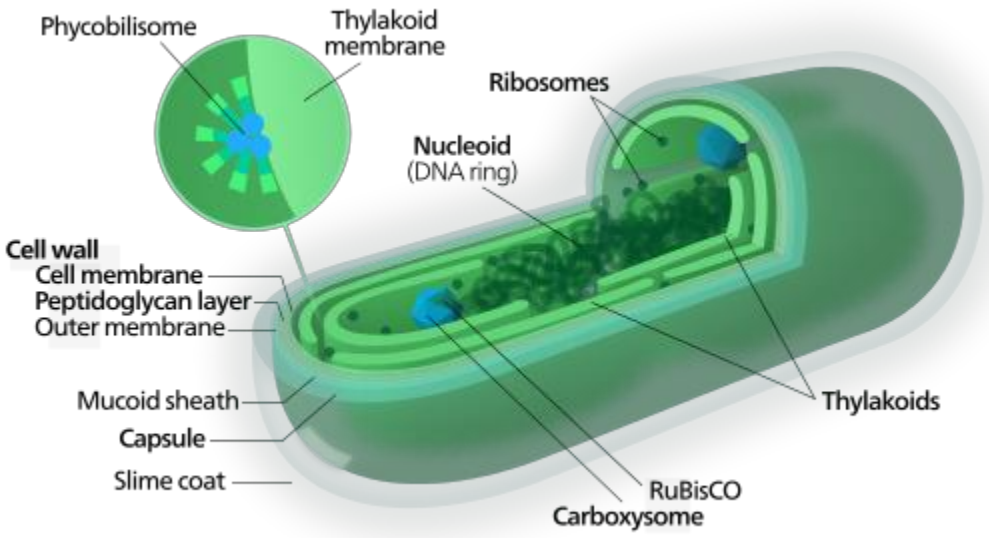
2 โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญใน Domain Architecture ของยีนต่าง ๆ 19

3 ไพรเมอร์สำหรับการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนในกุล่ม HyK ใน *Halothece* sp. PCC7418 25

บทที่ 1

บทนำ

ไซยาโนแบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตจำพวกแบคทีเรีย ที่มีความหลากหลายสูง และมีวิวัฒนาการมาอย่างยาวนาน โดยมีลักษณะเป็นเซลล์โพรคาริโอต (Shih และคณะ, 2013) รูปแบบโครงสร้างเซลล์มีสารพันธุกรรมกระจายอยู่ทั้งตัว และไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ดังแสดงในภาพที่ 1.1 สามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยใช้คลอโรฟิลล์ เอ, คลอโรฟิลล์ บี, แคโรทีนอยด์และกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีน ที่ประกอบด้วยไฟโคไซยานิน, อัลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริธริน เป็นรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง (Elanskaya และคณะ, 2018)



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของไซยาโนแบคทีเรีย

(ที่มา: Kelvinsong via Wikipedia.org under licensed of Wikimedia commons เข้าถึงข้อมูลวันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564)

โดยจากการที่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดนี้สามารถเกิดกระบวนการสังเคราะห์แสงได้จึงสามารถ สังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ได้หลากหลายชนิด นอกจากนั้นไซยาโนแบคทีเรียยังมีอัตราการเจริญที่รวดเร็วและมีค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงที่ต่ำ รวมถึงสามารถทำการตัดแต่งดัดแปลงทางพันธุกรรมและสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงภายในห้องปฏิบัติการได้ (Kumar และคณะ, 2018) ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด จัดเป็นเอ็กซ์ทรีโมไฟล์ (extremophile) ซึ่งมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่สุดขั้ว (extreme environment) ที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอื่นๆหรือก่อให้เกิดภาวะเครียดต่อเซลล์ เช่น กลุ่มไซยาโนแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง กลุ่มไซยาโนแบคทีเรียที่ชอบภาวะเป็นกรด และกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียที่ชอบเค็ม ซึ่งอาศัยได้ในภาวะที่มีความเค็มจัด หรือมีความเข้มข้นของเกลือสูง ตั้งแต่ 3-5 โมลาร์ได้ เป็นต้น (Selvarajan และคณะ, 2017)

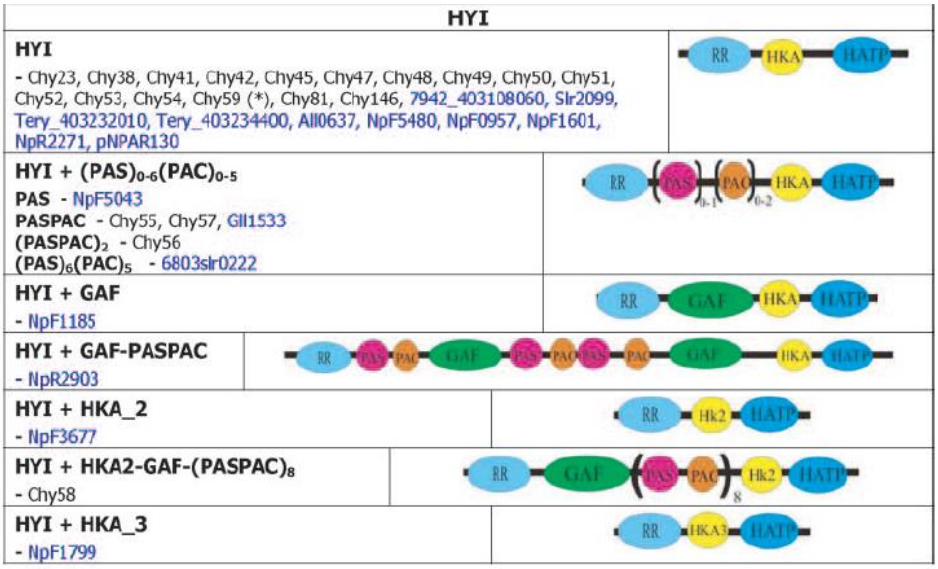
ความเค็มเป็นหนึ่งในปัจจัยจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตที่สามารถส่งผลกระทบต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งความเค็มนี้มีการเปลี่ยนแปลงและผันผวนได้ตามสภาพภูมิประเทศ สภาพภูมิอากาศโดยรอบ ก่อให้เกิดไอออนิกไอออนในเซลล์สูงและทำให้เกิดแรงดันออกโมติกภายนอกเซลล์สูงขึ้นอีกด้วย (Liang และคณะ, 2020) โดยเมื่อไซยาโนแบคทีเรียอาศัยอยู่ภายในสภาพแวดล้อมที่ได้รับความเค็มในปริมาณสูงหรือได้รับเป็นเวลานาน จนถือว่าเป็นภาวะเครียดจากเกลือ จะก่อให้เกิดความเครียดภายในเซลล์ได้ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระประเภท Reactive Oxygen Species (ROS) ขึ้นในเซลล์ จนเกิด oxidative stress ตามมา ซึ่งความเครียดจากความเค็มนี้ส่งผลให้เซลล์ต้องมีการปรับตัวเพื่อรับมือกับความเครียดเพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเซลล์ และทำให้เซลล์มีเมแทบอลิซึมที่ผิดปกติหรือเกิดความเสียหายขึ้นภายในเซลล์ได้ ดังนั้น ไซยาโนแบคทีเรียจึงต้องมีกลไกในการตอบสนองต่อภาวะเครียด เพื่อรักษาสมดุลของเซลล์, ป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์ และกำจัดสารพิษต่างๆ ออกจากเซลล์โดยการแสดงออกของยีนบางกลุ่มที่มีความสามารถในการควบคุมสมดุลของปฏิกริยาภายในเซลล์ให้เป็นไปตามปกติ

Two-Component System (TCS) เป็นระบบหลักในวิถีการส่งสัญญานของโพรคาริโอต โดยเฉลี่ยแบคทีเรียมีจีโนมที่แปลรหัสเป็น TCS มากกว่า 50 โปรตีน ซึ่งปกติ TCS ประกอบไปด้วยโปรตีนที่ใช้ส่งสัญญาณจำนวน 2 โปรตีน คือ Histidine kinase จากนี้ไปเรียกว่า HK และ Response regulator จากนี้ไปเรียกว่า RR เป็นโปรตีนที่ประกอบจากหลายโดเมน HK ประกอบด้วย transmembrane sensory ที่เป็นสัญญาน input มีหน้าที่กระตุ้น autophosphorylation โดเมน HK-transmitter เป็นเครื่องส่งสัญญาณ phosphorylated จากนั้นเชื่อมโยงกับโดเมนผู้รับของ RR และสิ่งนี้นำไปสู่การถ่ายโอนกลุ่ม phosphoryl ไปยังเรซิดิวซ์ของโดเมนผู้รับ ในกรณีส่วนใหญ่ฟอสโฟรีเลชันของ RR เปลี่ยนแปลงกิจกรรมของโดเมน effector output ภายในRR ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาผ่านการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนเฉพาะ (Barakat และคณะ, 2010)

ไซยาโนแบคทีเรียมีระบบ TCS ซึ่งเป็นระบบของโปรตีนที่ใช้ในการแสดงออกของเซลล์และยีนต่าง ๆ ในการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมภายนอกเซลล์ ประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ HK เป็นการทำงานร่วมกันของ phosphoacceptor (HisKA), HK ATPase (HATPase) Response regulator (RR) ที่เป็นการทำงานของ Aspartate-containing receiver ซึ่งเมื่อ HK ทำงานร่วมกับ RR ทำให้เกิดกลุ่มของยีนที่เรียกว่า ไฮบริดไคเนส (Hybrid kinase) จากนี้ไปเรียกว่า HyK (Ashby และคณะ, 2006)

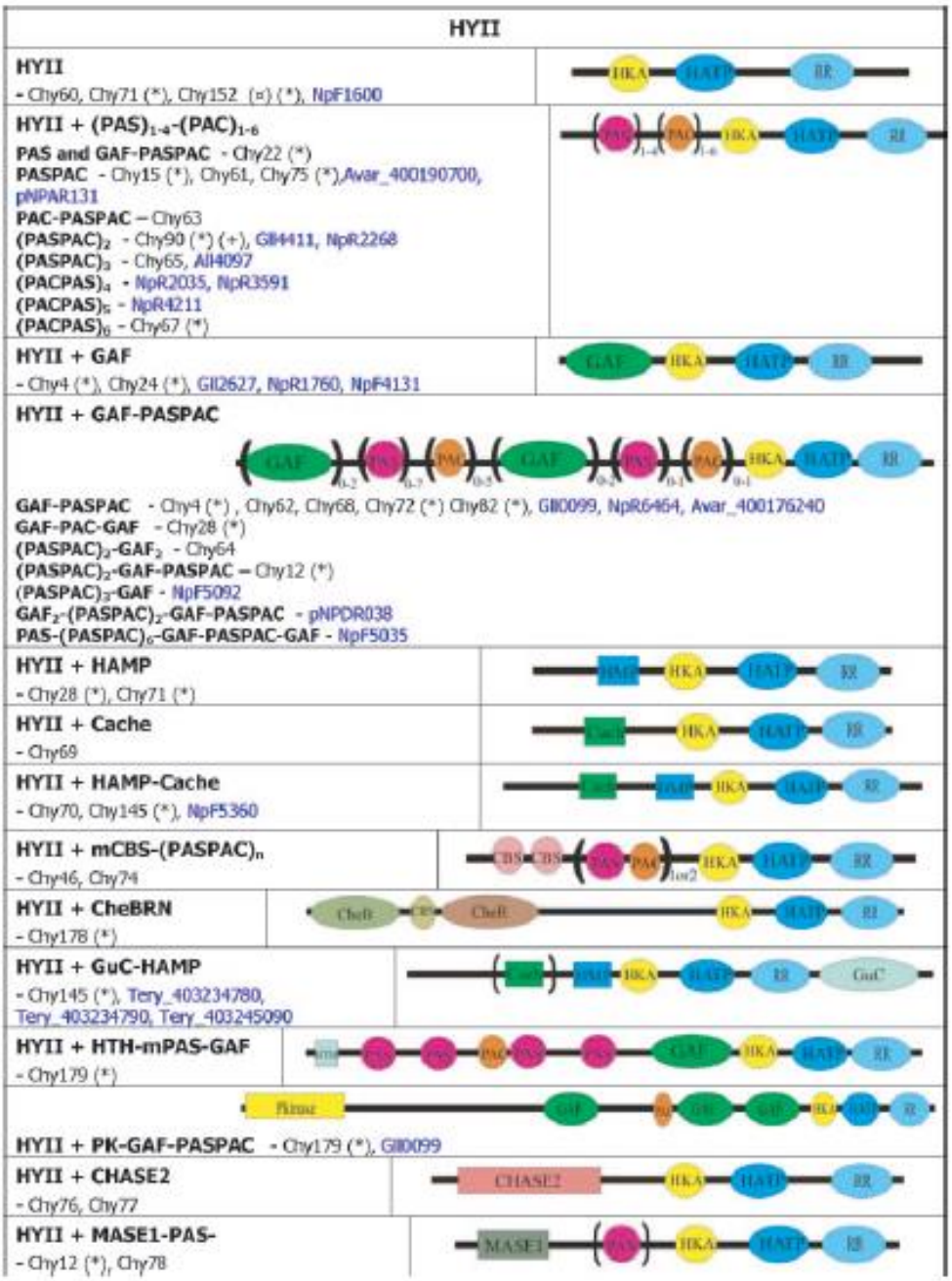
HyK สามารถแบ่งได้ 7 กลุ่มตามลำดับการจัดเรียงโปรตีนภายในยีน ดังนี้

1. กลุ่มที่หนึ่งพบว่ามี open reading frame (ORF) ที่มี RR หนึ่งตัวอยู่ที่ด้านปลายฝั่ง N terminal เช่น *Chy41* ทำหน้าที่เพื่อตอบสนองต่อไฮเปอร์ออสโมติกใน *Synechocystis* sp. stain PCC6803 ดังแสดงในภาพ 1.2



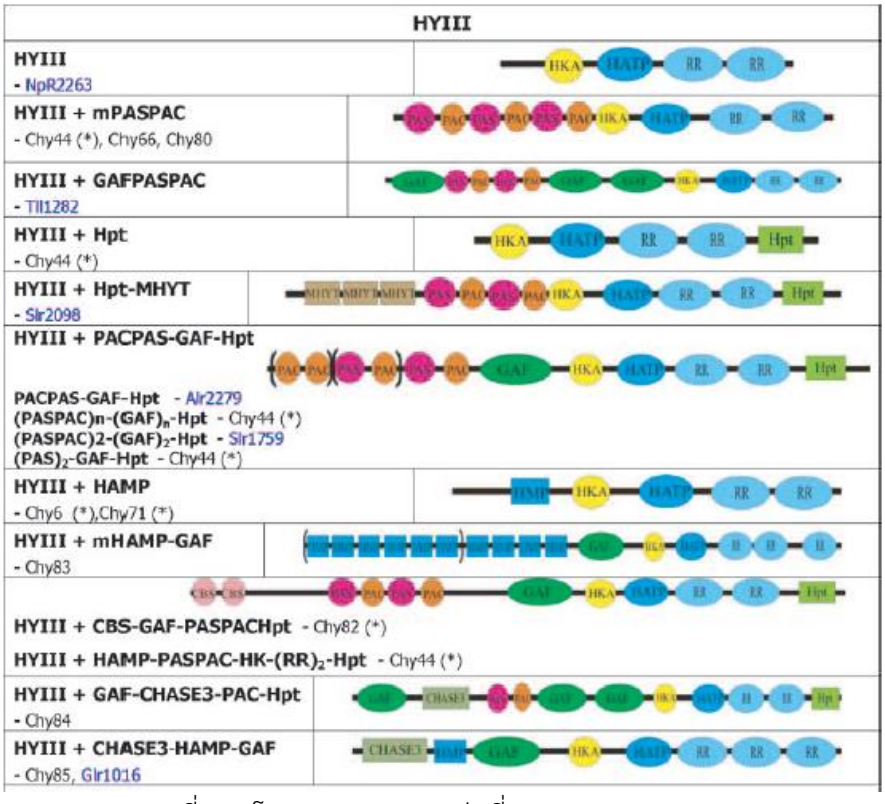
ภาพที่ 1.2 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 1

2. กลุ่มที่สอง มี open reading frame (ORF) ที่มี RR หนึ่งตัวอยู่ที่ด้านปลายฝั่ง C terminal ใน *S. elongatus* พบว่ายีนในกลุ่มนี้ ทำงานร่วมกับ *Cik A* ที่เป็น bacteriophytochrome ในการรีเซ็ตนาฬิกาชีวิตของเซลล์ ดังแสดงในภาพ 1.3



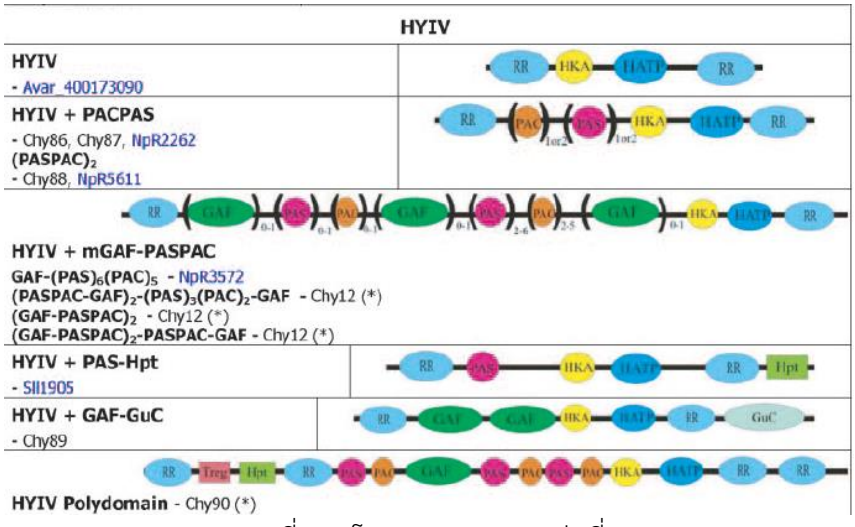
ภาพที่ 1.3 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 2

3. กลุ่มที่สาม มี open reading frame (ORF) ที่มี RR 2-3 ตัวอยู่ที่ด้านปลายฝั่ง C terminal ทำงานร่วมกับ HisKA-HATPase ดังแสดงในภาพ 1.4



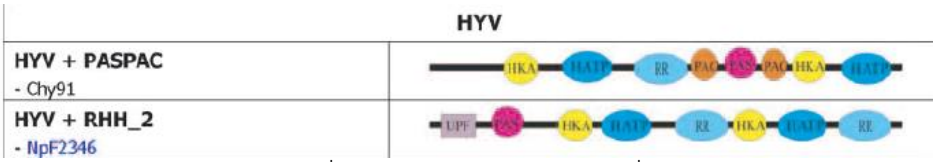
ภาพที่ 1.4 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 3

4. กลุ่มที่สี่ มี open reading frame (ORF) ที่มี HK อย่างน้อยหนึ่งตัวอยู่ที่ด้านปลายของทั้งสองด้าน พบว่ายีนในกลุ่มนี้มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณของเซลล์ในสภาพอุณหภูมิต่ำ ดังแสดงในภาพ 1.5



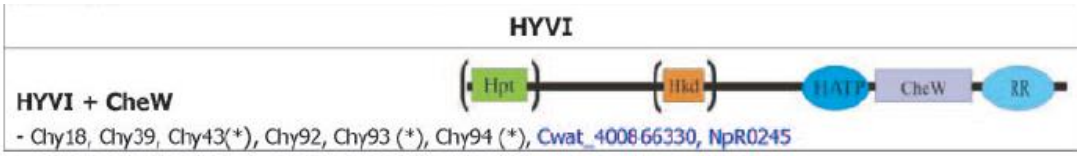
ภาพที่ 1.5 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 4

5. กลุ่มที่ห้า มี open reading frame (ORF) ที่มี HK 2 ตัวอยู่ที่ด้านปลายของสายและมีอย่างน้อย 1 RR แทรกอยู่ระหว่างโมเลกุล ดังแสดงในภาพ 1.6



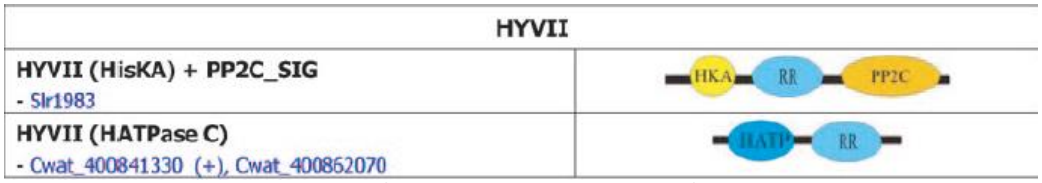
ภาพที่ 1.6 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 5

6. กลุ่มที่หก open reading frame (ORF) มี Hpt, Chew, RR และมี Hpt หรือ HKd โดเมนอยู่ด้วย ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งสัญญาณเคมีของเซลล์ ถูกพบโดยการวิเคราะห์ฟีโนไทป์ที่เกี่ยวข้องกับการกลายของเซลล์ ดังแสดงในภาพ 1.7



ภาพที่ 1.7 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 6

7. กลุ่มที่เจ็ด เป็นไฮบริดไคเนสที่ไม่สมบูรณ์ มีทั้ง HisKA หรือ HATPase เพื่อทำหน้าที่เพื่อเชื่อมต่อข้อมูลกับโมเลกุลอื่น (Ashby และคณะ, 2006) ดังแสดงในภาพ 1.8



ภาพที่ 1.8 โดเมนของ HyK กลุ่มที่ 7

สำหรับจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ *Halothece* sp. PCC7418 ซึ่งเป็นเอ็กซ์ทรีโมไฟล์ ที่คัดแยกได้จากทะเลเดดซี (Dead sea) ประเทศอิสราเอล (Waditee-sirisattha และคณะ, 2014) ซึ่งเป็นทะเลสาบน้ำเค็มที่มีปริมาณเกลือในแหล่งน้ำถึง 34% ซึ่งทำให้น้ำในทะเลเดดซีมีความเค็มมาก (hypersaline) อีกทั้งยังมีค่า pH ต่ำและมีองค์ประกอบของไอออนในน้ำต่างจากแหล่งน้ำอื่นๆ อีกด้วย (Jacob และคณะ, 2017) โดยภาวะดังกล่าวจะทำให้เซลล์เกิดความเครียดเนื่องจากเกลือที่มีความเข้มข้นสูง (salt stress) และทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์โดยการแสดงออกของยีนต่างๆ รวมถึงยีนในกลุ่มไฮบริดไคเนสอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาภาวะที่ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนนี้เพิ่มขึ้น และศึกษาระดับการแสดงออกของยีนในกลุ่ม HyK ที่แสดงออก เมื่อได้รับความเครียดจากความเค็มของเกลือในเอ็กซ์ทรีโมไฟล์ *Halothece* sp. PCC7418

บทที่ 2

อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และชุดทดสอบสำเร็จ

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. โกร่ง (pestle and mortar)
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) บริษัท Olympus (Japan)
3. หลอดทดลอง (glass test tube) บริษัท Pyrex (USA)
4. ขวดแก้วใส่สารเคมี (Duran) บริษัท Schott (Germany)
5. ขวดเซนตริฟิวจ์ (centrifuge bottle)
6. เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer) รุ่น MMS-3000 บริษัท Biosan (Lativia)
7. เครื่องชั่ง (balance) รุ่น PG2002-5 บริษัท Mattler Toledo (Thailand)
8. เครื่องควบคุมอุณหภูมิหลอดทดลอง (heat block) บริษัท Bioer technology (China)
9. เครื่องนาโนดรอป (nano-drop) รุ่น NanoDrop 2000 บริษัท Thermo scientific (USA)
10. เครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (rotary shaker) บริษัท Hercuvan Lab System (USA)
11. เครื่องปั่นตกตะกอนแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated microcentrifuge) รุ่น KUBOTA6500 บริษัท Kubota (Japan)
12. เครื่องปั่นตกตะกอนขนาดเล็ก (microcentrifuge) รุ่น Centrifuge 5418-R บริษัท Eppendorf (Germany)
13. เครื่องปั่นผสม (vortex mixer) รุ่น Vortex-Genieâ2 บริษัท Scientific Industries (USA)
14. เครื่องเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม (thermal cycler) รุ่น T-100 ä บริษัท BIO RAD (USA)
15. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น genesis-20 และ Biomate-35 บริษัท Thermo Scientific (Thailand)
16. เครื่องให้กระแสไฟฟ้าสำหรับการรันเจล (power supply) บริษัท BIO RAD (USA)
17. เครื่องอ่านเจล (imager) รุ่น Gel Docä EZ บริษัท BIO RAD (USA)
18. เครื่องอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (autoclave) รุ่น ES-215 บริษัท Meditop (Thailand)
19. ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (deep freezer) บริษัท Sanyo (Japan)
20. ตู้แช่แข็ง -40 องศาเซลเซียส (deep freezer) บริษัท Haier (China)
21. ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส (deep freezer) บริษัท Thermo Electron Corporation (USA)
22. ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven) บริษัท Contherm Scientific Limited (New Zealand)

23. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) รุ่น Microtech บริษัท LabMicro (Thailand)
24. ทิป (tip) บริษัท Biohit Proline tip (Finland), บริษัท NEPTUNE (Mexico), บริษัท Axygen Scientific (China), บริษัท Rainin (USA)
25. ปิเปตอัตโนมัติ (automatic pipette) รุ่น Proline Plus บริษัท Sartorius Biohit (Germany)
26. หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาดเล็ก (microcentrifuge tube) บริษัท Sarstedt (Germany)
27. หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาดเล็ก (microcentrifuge tube) บริษัท Corning (Germany)
28. หลอด PCR (PCR tube) บริษัท BIO RAD (USA)

2.2 เคมีภัณฑ์

1. โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) บริษัท Emsure (Germany)
2. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) บริษัท Ensure (Germany)
3. แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \times 7H_2O$) บริษัท Ensure (Germany)
4. แคลเซียมคลอไรด์ ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \times 2H_2O$) บริษัท Ensure (Germany)
5. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) บริษัท Ensure (Germany)
6. ไดโซเดียม เอทิลีนไดเอมีนเตตราอะซีติก ไดไฮเดรต ($Na_2EDTA \times 2H_2O$) บริษัท Amresco (USA)
7. กรดซิตริก (Citric acid) บริษัท Ensure (Germany)
8. แอมโมเนียม ไอรอน (III) ซิเทรต (Ammonium iron(III) citrate) บริษัท Ajax Finechem (New Zealand)
9. กรดบอริก (H_3BO_3) บริษัท Ensure (Germany)
10. แมงกานีส (II) คลอไรด์ เตตระไฮเดรต ($MnCl_2 \times 4H_2O$) บริษัท Univar (New Zealand)
11. ซิงค์ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) บริษัท Univar (New Zealand)
12. แอมโมเนียม โมลิบเดต เตตระไฮเดรต ($(Na_4)6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$) บริษัท Ensure (Germany)
13. คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต เพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \times 5H_2O$) บริษัท Ensure (Germany)
14. โคบอลต์ (II) ไนเตรต เฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2 \times 6H_2O$) บริษัท Univar (Germany)
15. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) บริษัท Merck Ag Dramstadt (Germany)
16. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) บริษัท Merck Ag Dramstadt (Germany)
17. แมกนีเซียมคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ($MgCl_2 \times 6H_2O$) บริษัท Univar (Germany)
18. ไทรซอลรีเอเจนต์ (TrizolÒ reagent) บริษัท Ambion (USA)
19. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) บริษัท RCL labscan (Thailand)
20. ไอโซโพรพานอล (Isopropanol) บริษัท Ensure (Germany

2.3. ชุดทดสอบสำเร็จ

1. ชุดสำเร็จ SuperScript III First-strand บริษัท Invergen (USA)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1. การวิเคราะห์ชีวสารสนเทศของ Hybrid Kinase (HyK) ใน *Halothece* sp. PCC7418

3.1.1. การสืบค้นยีนใน *Halothece* sp. PCC7418 ที่คาดว่าจะเป็นยีนในกลุ่ม HyK

ฐานข้อมูลที่ใช้ในการสืบค้น Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes: KEGG (https://www.kegg.jp), UniProtKB (https://www.uniprot.org) พบว่ามียีนจำนวน 13 ยีนที่คาดว่าเป็นยีนในกลุ่ม HyK ได้แก่ PCC7418_0473, PCC7418_0496, PCC7418_0613, PCC7418_0909, PCC7418_1045, PCC7418_1124, PCC7418_1191, PCC7418_1731, PCC7418_1732, PCC7418_2221, PCC7418_2725, PCC7418_2951, PCC7418_3814

3.1.2. การหา Domain Architecture ของยีนที่ได้

การหา Domain Architecture ของยีน ฐานข้อมูลที่ใช้ในการสืบค้น Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes: KEGG (https://www.kegg.jp), UniProtKB (https://www.uniprot.org), Pfam http://pfam.xfam.org/) มีขั้นตอนโดยละเอียด ดังนี้ เมื่อได้ข้อมูลยีนจาก KEGG แล้ว เลื่อนลงไปดูข้อมูลในช่อง Other DBs เลือกดูข้อมูล Uniprot เข้าสู่หน้าข้อมูลใน Uniprot เลื่อนหา ข้อมูล family and domain database เลือกข้อมูลที่ Pfam เลือก View protein in Pfam ข้อมูลลำดับการจัดเรียงตัวของโปรตีน จะปรากฏขึ้นมาในช่อง Pfam domains

3.1.3. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากการสืบค้นจากฐานข้อมูลในข้อ 3.1.1.

หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนกลุ่ม HyK ใน *Halothece* sp. PCC7418 จากฐานข้อมูล Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes (KEGG) จะได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนทั้ง 13 ยีน และถูกใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ต่อไป

3.2 การออกแบบไพรเมอร์

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่เลือกจากฐานข้อมูล KEGG มาออกแบบไพรเมอร์ ด้วยโปรแกรม Perl Primer (http://www.perlprimer.sourceforge.net) มีขั้นตอนโดยละเอียด ดังนี้

- เข้าโปรแกรม Perl Primer เลือกแถบเมนู Real-time PCR
- ใส่ค่าต่าง ๆ ดังนี้

Primer Tm:	50°C – 60°C
Difference:	2°C
Primer Length:	15 – 15 bases
Amplicon size:	300 - 300 bases
Option:	เลือก Exclude %GC

ใส่ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากฐานข้อมูล KEGG ลงในช่อง Genome sequence และ mRNA sequence กด find primer เพื่อค้นหาไพรเมอร์ที่เหมาะสม โดยเลือกไพรเมอร์ที่เข้าจับยีนในบริเวณที่ไม่อยู่ชิดปลายสายนิวคลีโอไทด์เกินไปและอุณหภูมิหลอมเหลว (Tm) ของ forward primer และ reverse primer ไม่ห่างกันมาก

3.3 การเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 ในภาวะปกติ

3.3.1 อาหารและภาวะในการเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418

ในการเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 เลี้ยงในอาหาร Blue Green medium (BG11) + Turk Solution (Waditee-Sirisattha และคณะ, 2014) ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยใช้อาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเติมเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร เลี้ยงภายใต้ภาวะที่ได้รับแสงขาวจากหลอดฟลูออเรสเซนซ์ โดยมีความเข้มแสง 1,000-1,200 lux ตลอดเวลา บนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2°C) จากนั้นติดตามการเจริญของเซลล์ *Halothece* sp. PCC7418 โดยใช้ spectrophotometer

3.3.2 การติดตามการเจริญของ *Halothece* sp. PCC7418

ติดตามการเจริญของเชื้อโดยแบ่งสารละลายเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไปใส่ในคิวเวตต์ ปริมาตรประมาณ 1 - 1.5มิลลิลิตร ใช้วิธีสเปคโตรโฟโตเมทรีในการติดตามการเจริญของเชื้อ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร (OD_{730}) ซึ่งเป็นการวัดความหนาแน่นของเซลล์ โดยใช้อาหาร BG-11 + Turk solution เป็น blank เลี้ยงเซลล์จนกระทั่งได้ค่าดูดกลืนแสงในช่วง 0.5 - 0.8 จึงทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ต่อไป

3.4 การเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 ภายใต้ภาวะเครียด (stress treatment)

3.4.1. การเก็บเซลล์เพื่อนำไปเลี้ยงต่อในภาวะที่มีความเครียด

นำเซลล์ที่เลี้ยงไว้ในภาวะที่ไม่ได้รับความเครียด ไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 8,000 รอบนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำเซลล์ที่ได้ไปชั่งน้ำหนักเซลล์เปียก ให้ได้ประมาณ 25 – 50 มิลลิกรัม โดยเตรียมเซลล์เปียกจำนวน 4 ชุด เพื่อใช้ในการเลี้ยงในภาวะที่มีความเครียดและทำเป็นชุดควบคุม

3.4.2. การเก็บเซลล์เพื่อนำไปเลี้ยงต่อในภาวะที่มีความเครียด

การเลี้ยง *Halothece* sp. PCC7418 ภายใต้ภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ (salt stress) นำเซลล์จากการปั่นเหวี่ยงในข้อ 3.4.1 มาเลี้ยงในอาหาร BG11+Turk solution ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2.0 โมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่าง ทุก 1, 3 และ 6 ชั่วโมง แบ่งใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 20 นาที เพื่อแยกอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจากตะกอนเซลล์ให้หมด แล้วเก็บที่ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้สกัด RNA, เปลี่ยนเป็น cDNA และทำ RT-PCR ต่อไป

3.5 การสกัด total RNA และการเปลี่ยนให้เป็น cDNA

3.5.1 การสกัด total RNA

นำเซลล์ที่เก็บได้จากข้อ 3.4.2 มาสกัด total RNA ด้วยสารละลาย TRIzol® reagent (Invitrogen,USA) มีวิธี ดังนี้ เติม TRIzol® reagent ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมกับเซลล์ *Halothece* sp. PCC7418 ที่มีน้ำหนักเปียก 25-50 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดลงในโกร่งที่เย็นจัดและบดเซลล์ให้เซลล์แตก จะสังเกตได้จากเซลล์จะมีลักษณะเป็นผง รอให้เซลล์ละลาย แล้วดูดสารละลายทั้งหมดใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 วินาที ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นดูดส่วนใสปริมาตร 400 – 500 ไมโครลิตร ย้ายไปใส่หลอดใหม่ เติมไอโซโพรพานอลที่เย็นจัด ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 วินาที ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง และล้างตะกอนด้วย 70 เปอร์เซ็นเอทานอลเย็น 1,200 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ ด้วยเครื่องปั่น

เหวี่ยงตกตะกอนความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้งให้หมด คว่ำหลอดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที เพื่อตากให้ตะกอนแห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำ diethyl pyrocarbonate (DEPC) ที่เย็น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แบ่งสารละลาย RNA ที่ได้ 2 ไมโครลิตร เพื่อใช้ตรวจสอบความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่องนาโนดรอป 200 (Thermo Scientific, USA) และแบ่งเพื่อนำไปใช้ทำเจลอิเล็กโทรโฟริซิส ตรวจสอบคุณภาพของ RNA เก็บ RNA ที่สกัดได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อเปลี่ยนเป็น cDNA

3.5.2 การทำ Gel Electrophoresis เพื่อตรวจสอบคุณภาพของ RNA

มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมเจลสำหรับรันเจล โดยใช้ agarose gel 1.2% (w/v) เติมสีย้อม SYBR safe ลงในเจล 0.5 ไมโครลิตร ผสม RNA 3 ไมโครลิตร, 10X loading dye 0.5 ไมโครลิตร, น้ำDEPC 1.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน หยอดลงในเจลที่เตรียมไว้ โหลด marker VC 1 kb (Vivantis, USA) เพื่อใช้เป็นตัวเทียบขนาดของ RNA ใช้ 1X TAE buffer เพื่อใช้เป็นตัวกลางในการนำไฟฟ้า ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที นำเจลไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gel doc™ EZ (Bio-Rad, USA) และอ่านผลด้วยโปรแกรม Image Lab (http://www.bio-rad.com/en-th/product/image-lab-software?ID=KRE6P5E8Z)

3.5.3 การเปลี่ยน RNA ให้เป็น cDNA

ใช้ชุดสำเร็จ SuperScript® III First-strand (Invitrogen, USA) มีขั้นตอนดังนี้ เปลี่ยน RNA ที่สกัดได้ให้มีความเข้มข้น 2,500 นาโนกรัม โดยใช้วิธีการเจือจางด้วยน้ำ DEPC ผสม Random hexamer, 10 mM dNTP mix, น้ำDEPC และ RNAที่เจือจางแล้ว ใส่ในหลอดไมโครเซนทิฟิวจ์ นำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้วนำไปแช่เย็นโดยทันที เตรียมสารผสมสำหรับสังเคราะห์ cDNA ผสม 10X RT บัฟเฟอร์, 25 mM $MgCl_2$, 0.1 DTT, Rnase OUT, SS III ให้เข้ากัน นำสารผสมสำหรับสังเคราะห์ cDNA มาผสมกับ RNA ในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ที่เตรียมไว้ ให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที, 50 องศาเซลเซียส 50 นาที, 85 องศาเซลเซียส 5 นาที นำไปแช่เย็นทันที เติม RNase H และบ่ม 37 องศาเซลเซียส 20 นาที เก็บที่อุณหภูมิ -10 - 30 องศาเซลเซียส หรือนำไปทำ PCR ต่อไป

3.6 Semi-quantitative RT-PCR เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนใน *Halothece* sp. PCC7418

ผสม Standard buffer, 2 mM dNTPs, Forward primer, Reverse primer, Taq polymerase, milli Q และ cDNA เพื่อใช้ในการทำ PCR

เพิ่มจำนวนโดยใช้วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) มีขั้นตอนคือ เริ่มที่ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้น Denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้น Annealing โดยที่ปรับอุณหภูมิตาม Tm ของไพรมอร์ที่ออกแบบไว้ เป็นเวลา 30 วินาที ขั้น Elongation ใช้อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส ปรับเวลาตาม amplicon size โดยที่ ประมาณ 500 คู่เบส ใช้เวลา 30 วินาทีขั้น Determination ใช้อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส 5 นาทีเมื่อสิ้นสุดขั้นตอนคงไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

หลังจากทำ PCR นำไปรันเจลอิเล็กโทรโฟลิซิสเพื่อเช็คคุณภาพ โดยใช้ Wide range DNA ladder เป็นตัวเทียบขนาด มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมเจลสำหรับรันเจล โดยใช้ agarose gel 1.2% (w/v) เติมสีย้อม SYBR safe ลงในเจล 0.5 ไมโครลิตร หยอด Wide range DNA ladder เพื่อใช้เป็นตัวเทียบขนาดของ PCR Product ลงในเจลที่เตรียมไว้ ผสม PCR Product และ 10X loading dye ให้เข้ากัน หยอดลงในเจล ใช้ 1X TAE buffer เพื่อใช้เป็นตัวกลางในการนำไฟฟ้า ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที นำเจลไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gel doc™ EZ (Bio-Rad, USA) และอ่านผลด้วยโปรแกรม Image Lab (http://www.bio-rad.com/en-th/product/image-lab-software?ID=KRE6P5E8Z)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. การวิเคราะห์ชีวสารสนเทศของ HyK ใน *Halothece* sp. PCC7418

4.1.1. การสืบค้นยีนใน *Halothece* sp. PCC7418 ที่คาดว่าจะเป็นยีนในกลุ่ม HyK

ฐานข้อมูลที่ใช้ในการสืบค้น Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes: KEGG (https://www.kegg.jp), UniProtKB (https://www.uniprot.org) พบว่ามียีนจำนวน 13 ยีนที่คาดว่าเป็นยีนในกลุ่ม HyK ได้แก่ PCC7418_0473, PCC7418_0496, PCC7418_0613, PCC7418_0909, PCC7418_1045, PCC7418_1124, PCC7418_1191, PCC7418_1731, PCC7418_1732, PCC7418_2221, PCC7418_2725, PCC7418_2951, PCC7418_3814

4.1.2. Domain Architecture ของโปรตีน HyK

หลังจากการสืบค้นข้อมูลยีนที่อยู่ในกลุ่ม HyK จากฐานข้อมูล Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes: KEGG, UniProtKB), Pfam พบว่ามีการเรียงตัวกันของโปรตีนชนิดต่าง ๆ ภายในยีน ดังตาราง ก. เมื่อศึกษา domain architecture พบว่าในโครงสร้างมีส่วนประกอบเป็นโปรตีนที่สำคัญหลายชนิดและหลายตำแหน่ง ตัวอย่างของโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ ดังแสดงในตาราง ข.

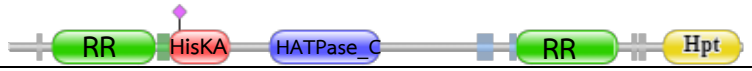
4.1.3. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ได้จากการสืบค้นจากฐานข้อมูล

หลังจากการสืบค้นข้อมูลยีนที่อยู่ในกลุ่ม HyK จากฐานข้อมูล Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes (KEGG) พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังแสดงในภาคผนวก ข

4.2 การออกแบบไพรเมอร์

จากการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกลุ่ม HyK ทั้ง 13 ยีน ที่ได้จากการสืบค้นในฐานข้อมูล KEGG มาออกแบบไพรเมอร์ ด้วยโปรแกรม Perl Primer โดยเลือกคู่ไพรเมอร์ไป สังเคราะห์สำหรับใช้ในการทดลองถัดไป ดังแสดงรายละเอียดในตาราง ค.

ตาราง ก. Domain Architecture ของยีนในกลุ่ม HyK

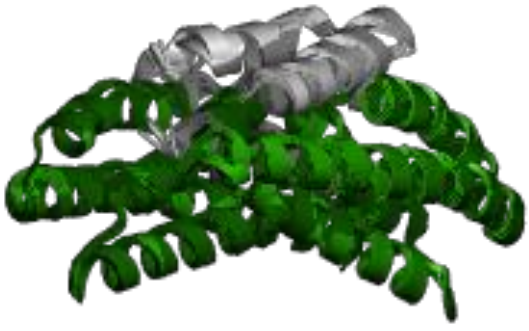
Genes	Domain Architecture
PCC7418_0473	
PCC7418_0496	
PCC7418_0613	
PCC7418_0909	
PCC7418_1045	
PCC7418_1124	
PCC7418_1191	
PCC7418_1731	
PCC7418_1732	
PCC7418_2221	

Genes	Domain Architecture
PCC7418_2275	
PCC7418_2951	
PCC7418_3814	

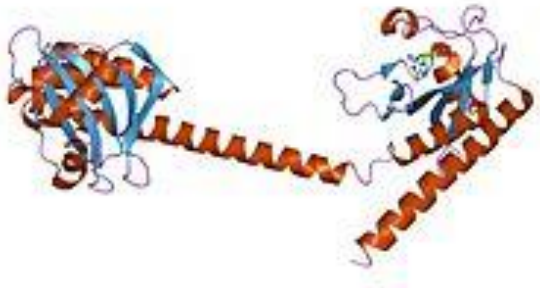
หมายเหตุ

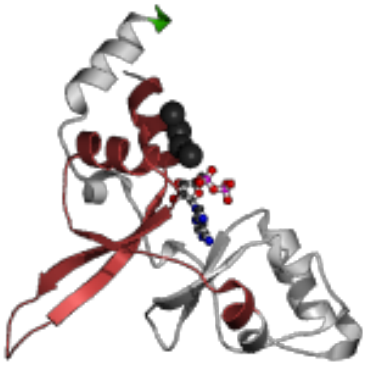
4	CBS	หมายถึง	โดเมน CBS
5	GAF	หมายถึง	โดเมน GAF
6	PAS_3 / PAS_4 / PAS_7 / PAS_9	หมายถึง	โดเมน PAS
7	HisKA	หมายถึง	โดเมนฮิสทิดีนไคเนส
8	HATPase_C	หมายถึง	โดเมน HATPase
9	RR	หมายถึง	โดเมน response regulator
10	Hpt	หมายถึง	โดเมน Hpt
11	CheW	หมายถึง	โดเมน CheW
12	GGDEF	หมายถึง	โดเมน GGDEF

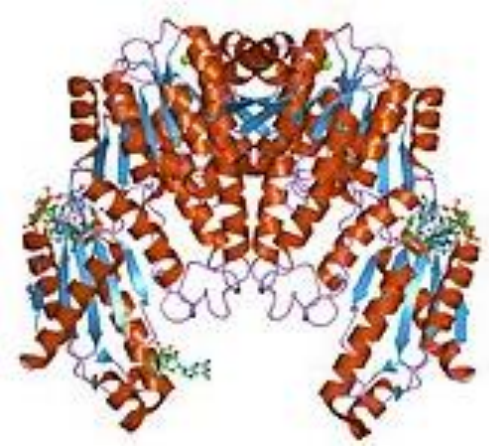
ตาราง ข. โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญใน Domain Architecture ของยีนต่าง ๆ

Domain	โครงสร้าง
โดเมน CheW : เป็นส่วนหนึ่งของกลไกการส่งสัญญาณ chemotaxis ในแบคทีเรีย โดยทำปฏิกิริยากับเมทิลที่อยู่ร ในโปรตีนที่เป็นตัวรับสัญญาณ chemotaxis (MCPs) และถ่ายทอดสัญญาณต่อไปยัง CheY ซึ่งมีผลต่อการหมุนของแฟลกเจลเลอร์ ที่มา : 1. Bilwes AM, Alex LA, Crane BR, Simon MI; , Cell 1999;96:131-141.: Structure of CheA, a signal-transducing histidine kinase	
โดเมน Hpt: histidine-containing phosphotransfer (HPt) ประกอบด้วยฮิสทิดีนเป็นโมดูลโปรตีนใหม่ที่มีกระตุ้นการทำงานของฮิสติดีนที่เป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยาฟอสโฟทรานเฟอร์ในระบบ TCS ที่มา : 1. Kato M, Mizuno T, Shimizu T, Hakoshima T;, Cell 1997;88:717-723.: Insights into multistep phosphorelay from the crystal structure of the C-terminal HPt domain of ArcBe. 2. Porter SW, Xu Q, West AH; , Eukaryot Cell 2003;2:27-33.: Ssk1p response regulator binding surface on histidine- containing phosphotransfer protein ypd1p.	

ตาราง ข. โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญใน Domain Architecture ของยีนต่าง ๆ (ต่อ)

Domain	โครงสร้าง
โดเมน GAF : เป็นโดเมนโปรตีนชนิดหนึ่งที่พบได้ในโปรตีนหลายชนิดจากจุลชีพทุกสายพันธุ์ โดเมน GAF ตั้งชื่อตามโปรตีนบางชนิดที่พบ ที่มา : 1. artinez SE, Wu AY, Glavas NA, Tang XB, Turley S, Hol WG, Beavo JA (October 2002). "The two GAF domains in phosphodiesterase 2A have distinct roles in dimerization and in cGMP binding". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 99 (20): 13260–5.	

โดเมน CBS : เป็นโมดูลภายในเซลล์ขนาดเล็กที่จับคู่กัน โดเมน CBS ผูกลิแกนด์กับกลุ่มอะดีโนซิลเช่น AMP, ATP และ S-AdoMet พบโดเมน CBS ที่เชื่อมโยงกับโดเมนโปรตีนอื่น ๆ ที่หลากหลายซึ่งบ่งชี้ว่าโดเมน CBSมีบทบาทในการควบคุมทำให้โปรตีนไวต่ออะดีโนซิลที่มีลิแกนด์ ที่มา : 1. Bateman A; , Trends Biochem Sci 1997;22:12-13.: The structure of a domain common to archaebacteria and the homocystinuria disease protein.	

Domain	โครงสร้าง
โดเมน GGDEF : เป็นโดเมนโปรตีนที่เชื่อมโยงกับโดเมนควบคุม เช่น ตัวรับฟอสโฟรีเลชันหรือโดเมนการรับรู้ออกซิเจน ทำหน้าที่เป็นไซเลส diguanylate และสังเคราะห์ไซคลิก-GMP ซึ่งใช้เป็นโมเลกุลส่งสัญญาณภายในเซลล์ในแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ การสังเคราะห์ exopolysaccharide การสร้างฟิล์มชีวภาพการเคลื่อนที่ ที่มา : 1. Paul R, Weiser S, Amiot NC, Chan C, Schirmer T, Giese B, Jenal U (March 2004). "Cell cycle-dependent dynamic localization of a bacterial response regulator with a novel di-guanylate cyclase output domain". Genes Dev. 18 (6): 715.	

โดเมน GHKL (Gyrase, Hsp90, Histidine Kinase, MutL) พบได้ในโปรตีนที่จับกับ ATP หลายชนิด เช่น histidine kinase, DNA gyrase B, topoisomerases, heat shock protein HSP90, ATPases ที่มีลักษณะคล้ายไฟโตโครมและโปรตีนซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ไม่ตรงกัน สามารถดูข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับโปรตีนนี้ได้ที่ Protein of the Month: DNA Topoisomerase

ที่มา :

1. Prodromou C, Roe SM, Piper PW, Pearl LH (June 1997). "A molecular clamp in the crystal structure of the N-terminal domain of the yeast Hsp90 chaperone". Nat. Struct. Biol. 4 (6): 477–82. .

สามารถจัดกลุ่มยีนตามลำดับการจัดเรียงโปรตีนในโดเมนได้ ดังนี้

1. โดเมน HyK กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ยีน PCC7418_0496
2. โดเมน HyK กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ยีน PCC7418_1732, ยีน PCC7418_1567, ยีน PCC7418_3814
3. โดเมน HyK กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ยีน ยีน PCC7418_1045, PCC7418_1478
4. โดเมน HyK กลุ่มที่ 4 ได้แก่ ยีน PCC7418_0613, ยีน PCC7418_1731
5. โดเมน HyK กลุ่มที่ 5 ไม่พบยีนในกลุ่มนี้
6. โดเมน HyK กลุ่มที่ 6 ได้แก่ ยีน PCC7418_0473, ยีน PCC7418_1124, ยีน PCC7418_1191
7. โดเมน HyK กลุ่มที่ 7 ได้แก่ ยีน PCC7418_0909, ยีน PCC7418_2221

ตาราง ค. ไพรเมอร์สำหรับการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนในกุล่ม HyK ใน *Halothece sp.* PCC7418

Name	Forward Primer	Length	Tm*	Reverse Primer	Length	Tm*
PCC7418_0473	AGAGACGATGGACGC	15	54.93	TCATTAACGCGCCTC	15	53.39
PCC7418_0496	GGTGTGATTCCTGCA	15	52.49	ATTGCGGTTAAGCCA	15	52.45
PCC7418_0613	AGAAAGTGCCTTTGC	15	50.84	TGCATTTCTGAGCAG	15	50.21
PCC7418_0909	TAGCCTCT GTAGCCA	15	51.88	GCCAATTCCTGTGTC	15	51.12
PCC7418_1045	ACAATCGGTCATCGA	15	51.00	TAACGCGGATTCCAC	15	52.86
PCC7418_1124	ATGCCCGTTACTCGG	15	55.24	CTTGCACCCGTACCA	15	55.40
PCC7418_1191	CAGCCCAAGCAGCAG	15	57.62	TTCCCTGCTGTTGCC	15	56.12

* หมายเหตุ

Tm : อุณหภูมิหลอมเหลว

ตาราง ค. ไพรเมอร์สำหรับการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนในกุล่ม HyK ใน *Halothece sp.* PCC7418 (ต่อ)

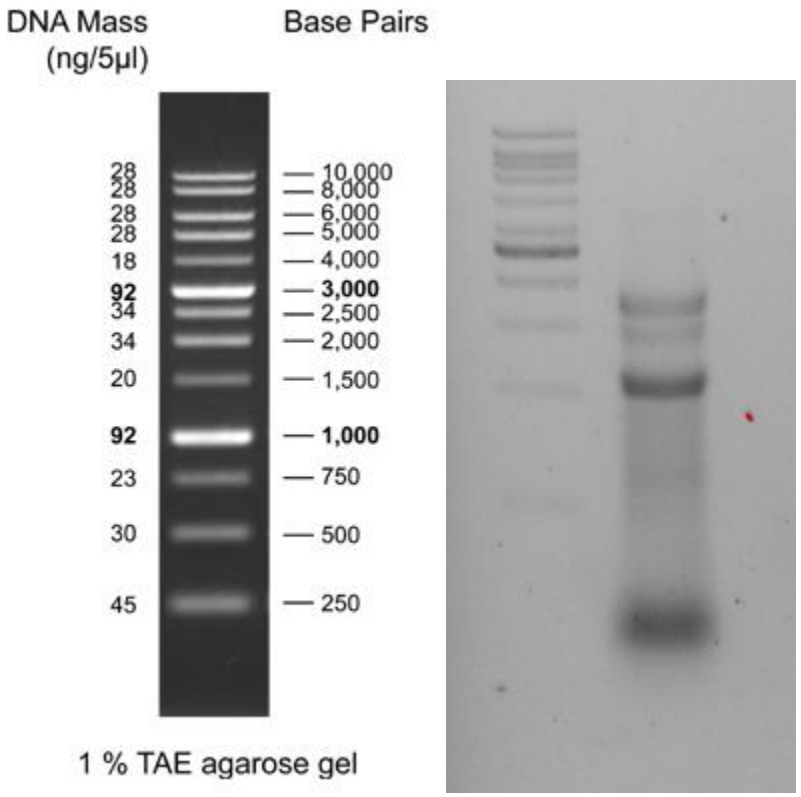
Name	Forward Primer	Length	Tm*	Reverse Primer	Length	Tm*
PCC7418_1731	TACCAATCAACGGGC	15	52.63	TTCCGACAATTTGCG	15	51.64
PCC7418_1732	AACTCAACGCAAACG	15	51.99	GCCCTGACTATGGAG	15	51.53
PCC7418_2221	CTTGCATCAACCAGC	15	52.05	CGCCAGAAATTCGTC	15	51.94
PCC7418_2725	CAGAAATGGCTGCTC	15	51.26	TTCTCTTGAGCGGGA	15	53.16
PCC7418_2951	AGCCGATCTGCCGAG	15	58.18	GGCGTGCGGATTTCG	15	58.71
PCC7418_3814	TTCCCTACATTGGCG	15	52.21	CTAAATCGGCTCGGC	15	53.99

* หมายเหตุ

Tm : อุณหภูมิหลอมเหลว

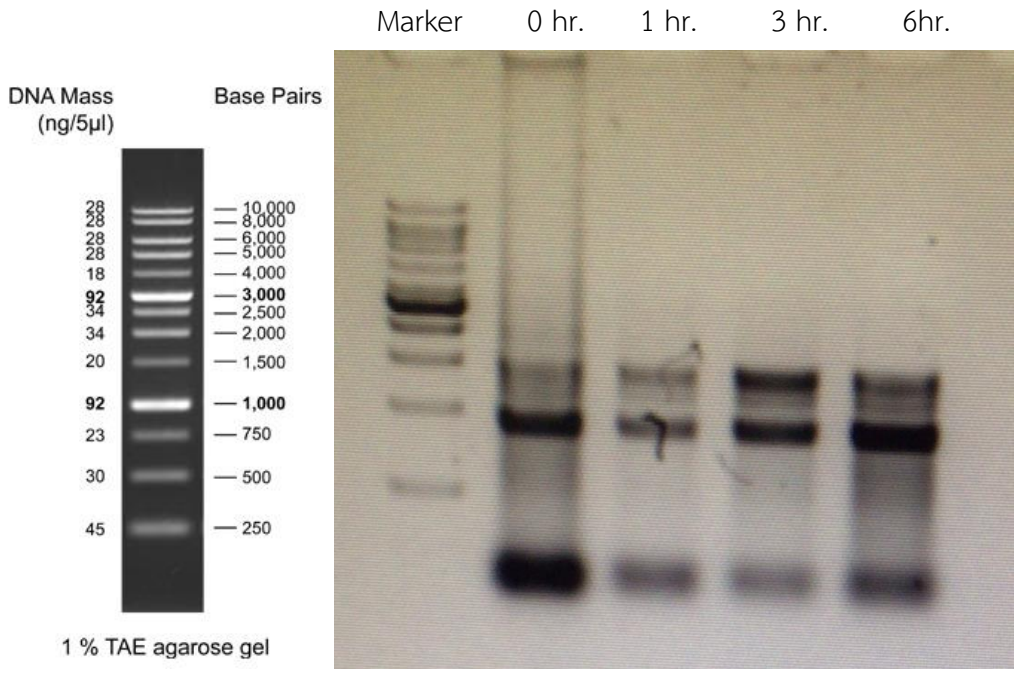
4.5 การสกัด total RNA จากไซยาโนแบคทีเรีย *Halothece sp.* PCC 7418

สกัด total RNA โดยใช้สารละลาย TRIzol reagent เมื่อนำสารละลาย RNA ที่สกัดได้ ไปวัดความเข้มข้น รวมทั้งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (A260), 280 นาโนเมตร (A280) เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ RNA โดยหาค่าอัตราส่วน A260/A280 ซึ่งใช้บ่งบอก ได้ว่ามีโปรตีนปนเปื้อนมาด้วยหรือไม่ และตรวจสอบคุณภาพของ RNA ที่สกัดได้ โดยการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิส โดยใช้ RNA ปริมาณ 2,500 นาโนกรัม พบว่า band ที่ถูกตรวจวัดได้ จะมี 3 ส่วนหลักๆ ประกอบด้วย ส่วนของ 23S rRNA มีขนาดประมาณ 1,500-1,800 คู่เบส, ส่วนของ 16S rRNA มีขนาดประมาณ 1,000 คู่เบส และส่วนของ RNA ขนาดเล็กๆ (small RNAs) จะเป็นแถบเข้มหนาอยู่ที่ด้านล่างของ 2 band แรก ดังแสดงรายละเอียดในภาพที่ 4.5.1 เป็นภาพผลการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิส เพื่อตรวจสอบผลการสกัด RNA จาก *Halothece* sp. PCC7418 ที่เลี้ยงในภาวะปกติ



ภาพที่ 4.5.1 เจลอิเล็กโตรโฟริสิสของ RNA ที่สกัดได้จาก *Halothece* sp. PCC7418 ภายใต้ภาวะปกติ

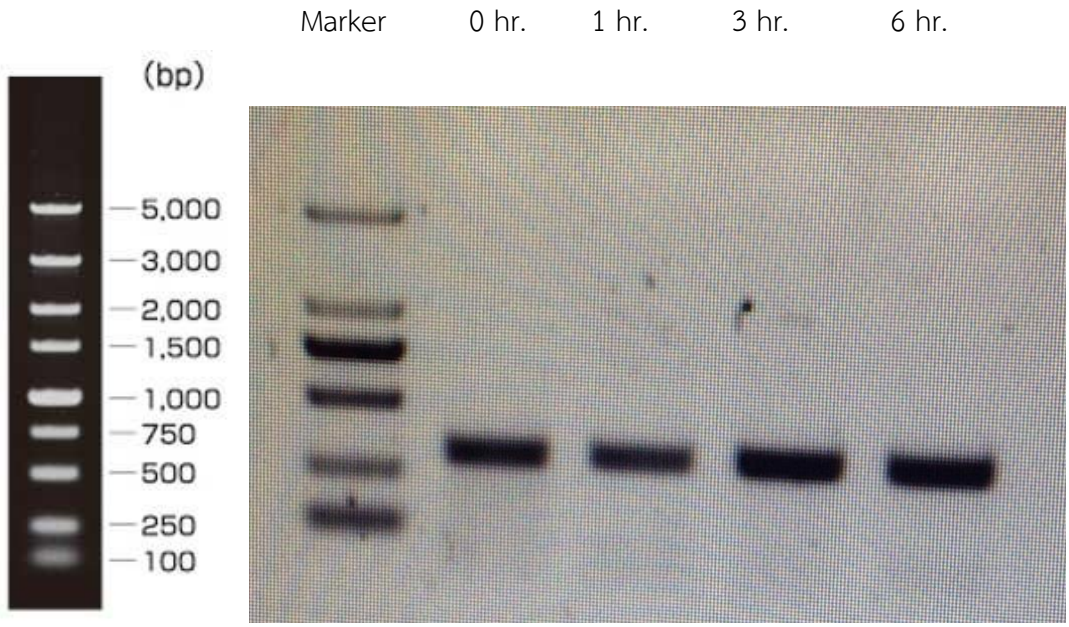
สำหรับการทดลองภายใต้ภาวะเครียดจากเกลือ ทำการเลี้ยงในภาวะดังกล่าวเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 ชั่วโมง ผลการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิสในภาพที่ 4.5.2 ซึ่งจะเห็นได้ว่า RNA ที่สกัดได้มีความเข้มข้นสูง มีความบริสุทธิ์ และผลการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิสมีรูปแบบที่เห็นทั้งส่วน 23S rRNA, 16S rRNA และ small RNAs อื่นๆ อย่างชัดเจนและมีความคมชัดของ band มาก โดยในชั่วโมงที่หนึ่งของภาวะที่ได้รับความเครียดมีความชัดเจนของ band น้อยที่สุด



ภาพที่ 4.5.2 เจลอิเล็กโตรโฟริสิสของ RNA ที่สกัดได้จาก *Halothece* sp. PCC7418 เลี้ยงภายใต้ภาวะที่ได้รับความเครียดจากเกลือ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ระยะเวลา 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

4.6 การเปลี่ยน RNA เป็น cDNA จากไซยาโนแบคทีเรีย *Halothece sp.* PCC 7418

จากการสกัด total RNA เพื่อนำไปเปลี่ยน cDNA และทำ RT-PCR โดยใช้สารละลาย TRIzol reagent เมื่อนำไปตรวจวัดคุณภาพของ RNA โดยการรันเจลอิเล็กโตรโฟริสิส พบว่าทุกชุดการทดลองมีรูปแบบของ band ที่ตรวจพบเห็นทั้งส่วน 23S rRNA, 16S rRNA และ small RNAs อื่นๆ อย่างชัดเจน และ band ค่อนข้างมีความสมบูรณ์ (intact) โดยเลือกทำ RT-PCR ที่จำนวน 35 รอบ กับไพรเมอร์ *AprnpB* ที่ใช้เป็น internal control พบว่ามี band ของไพรเมอร์ *AprnpB* เกิดขึ้นจริงและมีความเข้มของ band เท่ากันในทุกชุดการทดลอง ดังภาพที่ 4.6.1



ภาพที่ 4.6.1 RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ *AprnpB* ที่จำนวน 30 รอบ

4.6 Semi-quantitative RT-PCR เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนใน *Halothece* sp. PCC7418

เพื่อศึกษาผลการแสดงออกของยีนในกลุ่ม HyK ที่มีการแสดงออกภายใต้ภาวะที่ได้รับความเครียดจากความเค็มของเกลือ ในระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง คือ 0, 1, 3, 6 ชั่วโมงตามลำดับ โดยใช้ไพรเมอร์ที่ได้ทำการออกแบบไว้ข้างต้นสำหรับยีนในแต่ละตัวแล้ว พบว่ามีการแสดงออกของยีนแต่ละตัวไม่เท่ากัน

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ข้อมูลชีวสารสนเทศของจีโนมสมบูรณ์ ในไซยาโนแบคทีเรีย *Halothece sp.* PCC7418 พบว่ามียีนในกุล่ม HyK ทั้งหมด 13 ยีน คือ PCC7418_0473, PCC7418_0496, PCC7418_0613, PCC7418_0909, PCC7418_1045, PCC7418_1124, PCC7418_1191, PCC7418_1731, PCC7418_1732, PCC7418_2221, PCC7418_2725, PCC7418_2951, PCC7418_3814 ซึ่งเป็นยีนที่ใช้ตอบสนองต่อความเครียดที่ได้รับจากปัจจัยภายนอกเซลล์ ดังเช่น ภาวะที่ได้รับความเครียดจากความเค็มนี้

การตอบสนองของยีนในแต่ละตัวมีความสามารถในการตอบสนองที่แตกต่างกันและการทำ Semi-quantitative RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบไว้ในการทดลองก่อนหน้านี้ มีความจำเพาะต่อจำนวนรอบที่ใช้ในการทำ RT-PCR เป็นอย่างมาก ซึ่งขึ้นอยู่กับระดับการแสดงออกของยีนนั้น

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรค Covid-19 ที่เกิดขึ้นทำให้ทางผู้วิจัยไม่สามารถปฏิบัติการทดลองได้ตามปกติและมีระยะเวลาที่กระชั้นชิด จึงทำให้ขาดผลการทดลองในส่วนของการเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนแต่ละตัวได้ จึงทำให้ไม่มีผลการทดลองมาเปรียบเทียบและเขียนข้อสรุปได้

เอกสารอ้างอิง

1. Ashby, M. K., & Houmard, J., (2006). Cyanobacterial two-component proteins: Structure, diversity, distribution, and evolution. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(2), 472–509.
2. Barakat, M., Ortet, P., & Whitworth, D. E., (2011). P2CS: A database of prokaryotic two-component systems. *Nucleic acids research*, 39(Database issue), D771–D776.
3. Elanskaya, I. V., Zlenko D. V., Lukashev E. P., Suzina N. E., Kononova I. A. and Stadnichuk I. N., (2018). Phycobilisomes from the mutant cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 missing chromophore domain of ApcE. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1859(4), 280-291.
4. Jacob, J. H., Hussein, E. I., Shakhatreh, M., and Cornelison, C. T., (2017). Microbial community analysis of the hypersaline water of the Dead Sea using high-throughput amplicon sequencing. *Microbiology Open* 6(5), e00500.
5. Kumar, Jay and Singh, Divya and Tyagi, Madhu and Kumar, Ashok., (2019). Cyanobacteria: Applications in Biotechnology, Elsevier.
6. Selvarajan, R., Sibanda, T., Tekere, M., Nyoni, H. and Meddows-Taylor, S., (2017). Diversity analysis and bioresource characterization of halophilic bacteria isolated from a south African saltpan. *Molecules* 22(4), 657.
7. Shih, P. M., Wu, D., Latifi, A., Axen, S. D., Fewer, D. P., Talla, E., Calteau, A., Cai, F., Tandeau deMarsac, N., Rippka, R., Herdman, M., Sivonen, K., Coursin, T., Laurent, T., Goodwin, L., Nolan,M., Davenport, K. W., Han, C. S., Rubin, E. M., Eisen, J. A., Woyke, T., Gugger, M. and Kerfeld, C.A., (2013). Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-drivengenome sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(3), 1053-1058.
8. Liang, Y., Zhang, M., Wang, M., Zhang, W., Qiao, C., Luo, Q., & Lu, X., (2020). Freshwater Cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 adapts to an environment with Salt stress via Ion-Induced enzymatic balance of compatible solutes. *Applied and environmental microbiology* 86(7), e02904-19.

9. Uchiyama, J., Ito, Y., Matsuhashi, A., Ichikawa, Y., Sambe, M., Kitayama, S., Yoshino, Y., Moriyama, A., Kohga, H., Ogawa, S., & Ohta, H., (2020). Characterization of Sll1558 in environmental stress tolerance of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynthesis research* 146(1-3), 165–174.
10. Zuniga, E. G., Figueroa, N. M., Gonzalez, A., Pantoja, A. P., & Risser, D. D., (2020). The hybrid histidine kinase HrmK Is an early-acting factor in the hormogonium gene regulatory network. *Journal of bacteriology* 202(5), e00675-19.
11. Bilwes, A.M., Alex, L.A., Crane, B.R., Simon, M.I., (1999). Structure of CheA, a signal-transducing histidine kinase. *Cell* 96, 131–141.
12. Kato, M., Mizuno, T., Shimizu, T., Hakoshima, T., (1997). Insights into multistep phosphorelay from the crystal structure of the C-terminal HPt domain of ArcBe. *Cell* 88(5), 717–723.
13. Porter, S.W., Xu, Q., West, A.H., (2003). Ssk1p response regulator binding surface on histidine-containing phosphotransfer protein ypd1p. *Eukaryote Cell* 2(1), 27-33
14. Martinez, S.E., Wu, A.Y., Glavas, N.A., Tang, X.B., Turley, S., Hol, W.G., Beavo, J.A., (2002). The two GAF domains in phosphodiesterase 2A have distinct roles in dimerization and in cGMP binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(20), 13260–5.
15. Paul, R., Weiser, S., Amiot, N.C., Chan, C., Schirmer, T., Giese, B., Jenal, U., (2004). Cell cycle-dependent dynamic localization of a bacterial response regulator with a novel di-guanylate cyclase output domain. *Genes & Development* 18(6), 715-27.
16. Prodromou, C., Roe, SM., Piper, PW., Pearl, L.H., (1997). A molecular clamp in the crystal structure of the N-terminal domain of the yeast Hsp90 chaperone. *Nature Structural Biology* 4(6), 477–482.

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหาร

สูตรอาหาร BG-11 ที่มีการเติม Turk solution สำหรับเลี้ยง *Halothece sp.* PCC7418 ภายใต้ภาวะปกติ (0.5M NaCl) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

$NaNO_3$	1.500	กรัม
K_2HPO_4	0.004	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036	กรัม
Na_2CO_3	0.020	กรัม
EDTA disodium salt	0.001	กรัม
Citric acid	0.006	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.006	กรัม
Trace element A5+Co		
H_3BO_3	2.830	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.810	กรัม
$ZnSO4 \cdot 7H_2O$	0.220	กรัม
$NaMoO_4 \cdot 5H_2O$	0.390	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079	กรัม
$Co(NO3)2 \cdot 6H_2O$	0.049	กรัม
Turk solution		
NaCl	28.17	กรัม
KCl	0.67	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	6.92	กรัม
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	5.50	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	1.47	กรัม

สูตรอาหาร BG-11 ที่มีการเติม Turk solution สำหรับเลี้ยง *Halothece sp.* PCC7418 ภายใต้ภาวะเครียด (2M NaCl) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

$NaNO_3$	0.750	กรัม
K_2HPO_4	0.002	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.0375	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.018	กรัม
Na_2CO_3	0.010	กรัม
EDTA disodium salt	0.0005	กรัม
Citric acid	0.003	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.003	กรัม
Trace element A5+Co		
H_3BO_3	1.415	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.905	กรัม
$ZnSO4 \cdot 7H_2O$	0.110	กรัม
$NaMoO_4 \cdot 5H_2O$	0.195	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.0395	กรัม
$Co(NO3)2 \cdot 6H_2O$	0.0245	กรัม
Turk solution		
NaCl	58.45	กรัม
KCl	0.335	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	3.46	กรัม
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.75	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.735	กรัม

10X Tris-Acetate-EDTA (TBE) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

Tris base 48.4 กรัม
EDTA 3.72 กรัม
Acetic acid 11.4 มิลลิลิตร

1.2% agarose gel

ผงอะกาโรส 0.48 กรัม
1X TAE buffer 40 มิลลิลิตร
ละลายผงอะกาโรสโดยอุ่นร้อน ทิ้งไว้ให้สารละลายเย็นลง แล้วเติมสี SYBR® Safe DNA gel stainปริมาตร 4 ไมโครลิตร แล้วเขย่าเบาๆ ให้ผสมกัน

0.1% DEPC water ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ประกอบด้วย

Diethyl pyrocarbonate (DEPC)	1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ภาคผนวก ข.

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกลุ่ม HyK ใน *Halothece sp.* PCC7418

แถบสีชมพู หมายถึง บริเวณที่เป็น forward primer
แถบสีเขียว หมายถึง บริเวณที่เป็น reverse primer
แถบสีเหลือง หมายถึง บริเวณที่เป็น amplicon size

1. PCC7418_0473 (3081 นิวคลีโอไทด์)

ATGACTACCGATGAAGAAATCCGCCAACAGAGTTACGAACTCTTTCGTAATGAAGCCCCCGATCTCCTCGAACAG
GTAGAAACGGGAATCTATAATATTCAAGAAGATCACAGCCGACCCACCGTTCACGGCTTAATGCGGGCAACTCAC
ACCCTCAAAGGGGCTGCTGCTAATGTGGGACGGGATACCATTAAACAAATTTCTCATCATCTGGAAGATGTGTTT
GGCGCACTCCTTTCTCCCAATGCTGTCTTTGATAGTGAAGTGCAAACTCTTCTGCTTGATATTTACGAATGCTTGC
GAGTCGCCTATAACAACGAAATACAAGGAAATAATACAAGTGATGAGCAAAACCTGAAACGGGCGGAAGGAATTT
TTGCTCAACTGCAAGATAAACTGGGGGATTGCTTTGATGAAGAACCCGCAGTGCTCTCTTCTTCTGAACTCGGGT
TTGATATGACCCAATCGGTGTTTCAAGTCGGGGTCAAACAACGCATTGAACAGATTGAATCCACTTTAAATGAAAC
AACAGACTCACAGGAGATTGCAGAAGCGGTAAGCACTCAGATGGAAGTGTTTGTGGGCTTAGCCGAATCTTTGGG
GTTAGAAGGATTTAAAGAGATTGCTCAAACGGGTCTTAAAGCCCTTCAACAGCATCCACAAGCAGCAGGTGATAT
TACTCAAGAGATTTTGAATAATCTTCATGAAGCCAGAGAACAGGTTTTAAATGGAGAGCGCGATCGCGGGGGAGA
ACCCTCAGAAATCCTCAAAGGCTTTGCTGAAGACACCTTCACCGAAACCACAGCCACCCGCGAAGACGATTCTCT
CTCTCTTGAAGATACATTTGGTACTTTTGACACTAACGAGGAAGAAGATCCCTTCGCCTCATTTGCAGCAGCCTCG
ACATCAGAAACCGAGGTCGAACCACAACCAACTCCCGAACCAACCGCCCCACCCCAATCTCAACTTGTCCCCACT
TCCGAAGAAAAACCAAAAACAGAAACCAGTCACGATCCAGAGCTAGAATCTTCTCAATTCCATCAACAAGCCAGT
ACCCCTCGCAATCGAGTCAGCATTCGGGTTGATTTAGAACAAGTGGAAAACCTCAATCATCTCGTTGGGGAACTT
TCCATTAACCAAAACCTTTTATCACTGCGGGATGAACAATATCAATCCGCATTACAAAAACTGGGCGGTTGGCTCT
CTCAACATCGACGCACCCTATTCCAACTCCGAGATAAACTTCCTGCTGAATATGCCAACAGCGACTTTGCTCAGTT
CTTATACGCTTCTCTAGAAGAAAATAGCCAACTGGAACAAGCCCTGGATGATGTGAATCATCTTGCGAGATCAAA
TGCCACTTCAGTGGAACGAGAACAACGCCTCTCTCGTCAGCTTCGAGATGCCCTAGAAGGGGTACGAATGCTACC
CATTGAGAAAGTTCTAAATCGGTTTCCGCCCATGGTGAGAAAACTCAGTCAATCTTATAACAAGGCAGTGGAACT
GAAACAGAGTGGCGTACAAGTTTTAGTGGATAAAGCGATTACCGAAAATCTCTATGATGCCTTACTCCATATTGTT
CGCAATGCTTTTGACCATGGTATTGAATCCCCCCAAGAACGACAACAACAAGGCAAACCAAGCACAGGACAAATT
TTCATTCGTGCCTATAACCAAGGAAACCGCACCATTGTTGAGGTAAGAGACGATGGACGCGGGTTAGATGTGGAA

AAAATCTGTCAACGGGCGTTAGAAAAAAATCTGATTACAACGAGCCAAGTGCAAGCAATTCGCAAATCTCCCCAT
CCCGAAGACCAACTGCTGCGGGTGCTTTGTGAGCCTGGTTTTTCCACTGTTGCTAACGCCACAGATCTCTCAGGG
CGAGGGATTGGTTTAGATGTGGTTTATTCCCAAATGCAGAAAATTAACGGGTCTGTCACCGTTGAAAGTGAAGTT
GGCGTGGGAACAACCTTTTATCTGCAAATCCGAGGCGCGTTAATGAACGCTCGTTTGTTAGTGTGTAAAGCGGGA
AATGGAATGTATAGCTTTATTGCCGATGAAGTGGAACAAGTGCTGATTCCAGAGGAAGATCAAGTTAAATGGTTA
GGTAGTCGCAAAGTCTTGCAATGGCGATCGCGCAAAGAAGAAAACCCGATCAGTATTCCCATTTATGGCTTAACC
AACCTCTTAAACTATCAGCGCAATGCCAACTATCTTCTGCAAACCCAGACTAAGTCCGATATCGAACTCCAGCAA
GAAACGACACTTCTAACAGCAGAAGAAGGCGTAACACCGCTTTTACTCATCCGCACTCCAGACGGGCTCGTCGCC
TTAGAGATTGATACCATTCTCGAAGAACAAGAGTTAGTCTTAAAACCCTTCTCTATGACCGTACCACCGCCCAGTT
ATGCCTATGGCTGTACCATTCTTCCTGACGGTCAACTGAGTCTTGTTGTTGATGGTGCAGCCCTCCTCAACCATAG
CCAAGCCCATCTCAGTAGCAGCAGTTCCCTTCTTCCCCAACGAAACCCCCAACAACCCCCAAGTCTTCCCAGTCA
AAAACAAGCAGCCCTCGCTCATCAACGGCTCACCGAAGACTATACCAATCCCTATAGTGTTCATCAGACCCAAGA
AGAAGATCTCAAAAGCATCCATGATGATCACTCTTCCCCGACCACTAGCAGTAAAACTCCTCTTCCCATTGATAAA
GAACAATTCCGAACCTTGCTTGTGATTGATGACTCCATTACCGAGCGACAAACCCTGTCCATGATTATGCAAAAA
GCAGGACATCACGTCATACAAGCCAAAGACGGTCAAGATGCCCTCGACCAATTACAACAAGGGGCAAAAGTCGAT
TTGATTGTCTGTGACTTAGAAATGCCTCGGATGAACGGTTTAGAATTTATTGGGGCGACCCGCCAAAATCCTGAA
CTTTCGCAAATTCCCGTAATTGTACTGACCTCGCGCACCCGTGATAAATACCAACGCATTGCCATGGAATTAGGC
GCGTCTGATTATTTAACGAAGCCCTATTTAGACCAAGACTTACTCGGCGCAGTCGGTAAAAATCTAGAATAA

2. **PCC7418_0496 (1572 นิวคลีโอไทด์)**

ATGGACTTTGAACCGAGAATTTTAGCAGTTGATGATGTTCCTGATAACTTATTATTGTTATGTGACTTATT
AGAAGAACGCGGATATCATGTCAGTATTGCTTCTAATGTACAGGTCGCTTTAAATAATATTAATAAAAACC
CACCCGATTTAATTTTGCTTGACATTTGTATGCCAGGGATGAGCGGTTATCGGGTTGCCTCGCAGTTAAAA
TCAGATCCAAAAACAAAAGAAATTCCCATTATTTTCTTAAGTGTTTTAGAAGATGCTCACTTAAAAGTCAA
AGCCTTTCGGGTCGGCGGAGCAGACTATATTACCAAGCCGTTTCAAGTGGAAGAAGTGATTGCAAGGATT
GAACATCAAATCACGATTCAACAACAGAAAAATGAGCTCAAGCAATTAAAAGGACAACTGTTAGAACAAA
ATCAGATCTTAGAACAACGGAACTATGATTTACAGGTTTTACTGACGTTAACTAAAATTATGAATACCGCA
GAGACTCTAGATAGCGCGATCGCGCAGGTGTTAACAAAACTCTGTAAAATCATTGGCTGGGATTATGGAG
AAGCATGGATTTTAAATGCGGAAGGAACTGAACTAGAAAACAGCAACTCTTGGTATGCGAGTGATCCGAG
CTTAGATCGGTTACATGAGAACCAAGAAGAAACAATTGTTAACGTCAAGAAGGACTTAGTTAAACAAATCG

CTCAATCTCAAGAAATTCAATCCCTCGTTGATATTAAAAATATTGAGCAATTCAGTCGGTGTGATTCCTGC
AAACAATTACAAAAAAACATCCAAAATCTGGGTTTAAAAACCTTATTGGGAGTGCCAATTCTTTTTCAAAG
AACAGTCTTAGCTGTCTTGCTGTTTTTCTCAGATGGTTCTGAATCTGATGGTCAAACATCTCAAGTTTCAC
CCCTAAGTTTTGATCAATTGGAATTAATTCAATCTGTTGCTAATCAGTTAGGAACATTAATGCAGCGGTTA
CGCACGGAAACAGCATTGAAACAAGCCAATGAGAAACTCCAGCATTTGGTTTCTTATGATGGCTTAACCG
CAATTGCAAACCGACGGCGATTTGATGAGTATTTAGATGAACAATGGCGACAAGGAAAGCGCGATCGCGC
TGAGTTATCCTTAATTTTATGCGATTTAGATGCCTTCAAACGCTACAACGATACCTTAGGTCATCAAGCAG
GAGACCAATGCTTACAACAAGTTGCTCAGGGGATTGAAGCAATTGTCAACCGTCCCCTTGATTTAGTCGC
TCGCTATGGAGGAGAAGAAATTGCAATTTTACTTCCTAAGACCTCGCAAATAGGCGCATTTCAGTTAGCG
GAAAAAATCTGCACAGCGATCAAAGAATTACAAATTTCTCATCCTGATTCCCCAGTCAGTCCTTATGTCAC
CATTAGCGTTGGTGTCAGTAGTATTATTCCCCGAGATGATTGTGCGCCAAAAACCTTGATTAGAATGGCTG
ATAATGCGCTGTATCAAGCTAAAAAATCGGGGCGCGATCGCGTGATTCTCAATAACCAGTTCACAGAAGA
AATCAATCAGGATCAATAA

3. **PCC7418_0613 (2445 นิวคลีโอไทด์)**

ATGTCAAAAGAATCACAACACCTAGTCCTAGATTCAGTCACAACTAATAGTAAACTCCTGCTAACGAGTCAAC
GGGAAAAATTCACCCAGATTATGCCAGTCCAAACCAGAGATGAAGCGACTTCATCCCGTCAAAATTCGCTAAT
TTTGGTCATCGACGATAACGCCTCCGATTTGCAGTTGCTCTCAAGGGTGTTGCAAAAAGTTAATTATCAGGTAT
TGACTGCTTCATCGGGAACTGAGGGGCTGCAAATTGCTAAAACTTCTAAACCCCATCTCATCCTGTTGGATTT
GATGATGCCTAACATGGATGGATTGCAAGTCTGTCAGCATCTCAAAGCTGATGCAGATCTCCAACAAATCCCA
GTCATTTTTTTAACAGCGAGTTGGGAAGACCAGCAGTTAGAACAGGCTTTTCAAGTGGGGGCAGCAGACTATG
TGACCAAGCCCTTAAAAAAAATCGAATTGCTCGCCCGTATCAATGTTCATCTAGAGTTACAACAGAAGCAAAG
GTTATTAGAAACCGCCCTCAAAGCGAAGTCCCAGTTAATGGCAAATTTAAGTCACGAAATTCGGACTTCTCTC
AATGCCATCTTAGGGATGAGTCAATTTCTGTTAACAACCTCTCTGACAACAAAACAAGAGAAGTGTTTGAATCT
TATTAATAAGAGTGGAAACCACCTCTTGAGCATCGTGAATGATATTCTTGACTTCTCGAAGCTAGAAGCTCAG
AAGCGCACTTTAGAGCTCCATCAATTCCATTTGAGGCAGTTGATTGCTGATACCGTCAGACTTTATGAAGTAG
AAGCTGCGAATCAAAACGTTGTCCTGAAAGCTCAAGTTGATCCTGATCTCGCCCAGTTTTTTATGGGCGATAG
TTTTCAGATTCGTCAGGTTATTTACAATCTCCTCAGTAATGCTCTCAAGTTTACAGAAGAGGGACAAGTCGAAC
TGCGGGTCTTTTCCCTCGCTAAGACGACCTCTGAGGGGTTGCCATGGGCTTTGCAGAAAGTGCCTTTGCGCTT
TGAAATCCAAGATACGGGGCCTGGCATTGCTCCAGAACATCAGGATAAACTTTTCCAGTCTTTTTATCAAGCG
GATACCTCAACGGGGGGAACAGGTCTGGGACTGGCGATTTGTAAACAAATTGTGGAACTTATGGGAGGAACAA

TTGGAGTCGAGAGTCAACGGGGTCAGGGATCAACGTTTTGGTTTGAAATCGATCTTGACCCGTGTTATAACTT
CCAGATTCCAGAACTAATCGGAAAGCGATTACTTTTAGTCACTCAAACCTGCTCAGAAATGCAAGCGGTGATC
CAACAAACGGAAGCCTGGGGAATGACAGTCACCCAAGTAGAGACGCTGAAAATAGGTTCAACAGAAATTAGCA
GAGGGTTTCTAGAATCTCAACCTTATGATTTTGTTTTGTTTAACCTCGCCCATTTTCGACGGGAAACAGATTTG
CAGACGATCGAGCAGGTATGTCAAGAGTTGCATTCAACCCAGACCAAAATAATTGGGCTAGAATCTCAAGATA
AGAAGCATCATCGACAACAACAACTTGCGTTTGACAGCTTTCTATCTGATCCGCTTCAGAGTTCGCAACTGTT
GTCATGTTTTCAAGAATTTCTTGCCCAACTACAACCTCGGTTTGAGGAACGCCAACTGGGAAACCTTTTAGAC
GAGGTAACAGTTTTAGTCGTTGAGGATAGTGTCGTTAATCAACAGGTGTTAGAGCGTCACCTTGAAGGTTTAG
GGGGAGCAGCAGACTATGTGAATCATGGTGCTGAAGCTCTCAACTCTCTTCAACAAAAACAGTACGATCTCCT
CTTGATGGACTGTAAAATGCCAACGTTGGACGGGTATGAAACAACTCGGCAGATTCGCGCTTTATCGATCAAA
CAACCGATTATCATTGGCTTAACGGCGTATAAAGGTGAAGCAGAACAAGAGAAATCTCTCGCTGCGGGAATGG
ATGATTGCCTCAGTAAACCCATTCGCTTTGAGCGGTTTGCTCAGTTGTTGGCAAAATGGCTACTGGGGGATTT
TGACCACTGGGCTGATGAAATTGCTGTTTCCTCTTCCCCTCCCCAAAATGCAGAAAATTTATCCAAGACGGAG
CGGTGGATTGATGATGAGGTTTTGCAAGAATTGACAGAAGGCGATCTTGAGTTGAGACAACAACTGGTAGGTT
TGTATATTAATCAGGCGAGGGATTATCTCAAGCAAGGACAACAAGCAGTGGCGGATCAAGACGCGATCGCGCT
GGGTCATTGTGCCACCAACTAGAAGGCAGTTCAGTTAAACAGGGATGAATTTAGCCGTCAACTTAGCAATCAG
GTTAGATCAATCCGCTCAGCAGGCTAATTTTCAAAAGGCTACAGAGATTCTTAAGCAATTAGAACAAGTAATTG
AACAAGTCGAACAGGAAATATTGCATTGA

4. **PCC7418_0909 (2217 นิวคลีโอไทด์)**

ATGTCATCAGAATCGCTGGAGTCGGATTTAAAGGAATTACAAGAGCAACAAGCGTTAATCTTAGAACAAATTGAC
CGCGCGATCGCGCTATTTGACAGCAGCGATCACATCATTAACTACAACCAATCCTTTTTAGTTTTGGGAGGCTTTT
CCCCCGATTGGCTGGCACAACAGCCCTATGGTGAGAAAGTTTTAGATACTCTAGCCAGTCATGGCAAATGGTCAA
ACGGACAGCGACAAATTCTGGATGACATTATTCAAAAAGCTGATTCTAATCCCACCTCTTGTACCATTGAGCAAAG
CTCTGGAGAAAGTTTACATTTTCTCGTCACAGCAACCTCTAATGGGGGATACCTCCTCAATATCCGCCGATTGAAT
GTCACGTTAGACTCCCAAGATATTGTCAATCGTGAATTAAGACGGCTCACCTTTCTGCTCGGATTGACCGAACGC
TTGCAACCCGCTACTGATATTGAAGAAATTGGTCAATTTGCCCTCTCTTATCTCATTGAAACCACTAACGCTGCAT
TTGGAGACGTGAAAGTCATCACTGGGGAAGGGGAAAATCGTCAAGCAGGGCTTTTAGTCAATGAAATTACATCAG
AATTTATTGCCACCTATGGCGATGCGATTCCAGAAATGGAAGCCCAAATGAAAGAAGGGATTCCTTATGGAGAAG
GATTATTATGGCAAGTCGTAGAAACTGGAAAGCCCTTTTTTGTTCAAGATTATGCCAATCACCCCCAAGCCGTTAA

CGCCTTTCGCAATCCTGGTATCGGACAACTCGGAATTTTCCCCATTCCCGCACATAGTGGCGACATTATTGGCGT
TTTAACCTTAGAATCTCGCTCAGAAAACCCCCTGCAAAGTCAGCTACAAGAAGATATGGTTTTGGCAGCCTGTCG
CACCTTAGGGGTTGCGATCGAACGAGCGCAAGTGCAACAAAATCTCCGTCAAGCTAATGAAGATTTAGCCCAAGC
CTCCCAAATGAAGTCAGAATTTTTGGCTTCTATGTCCCATGAGTTACGAACCCCTCTCAATAGTATTTTAGGGTTT
GCAGACCTCTTAGAACGACAAAGAAAAGAACCCTTAAGCGATAATCAACTTAAACAAGTCAAAGCGATTAAACGC
AGTGGGGAACACTTACTCCAACTGATTAATGATATTCTTGACCTTTCCAAAATTGAAGCTGGAAAAACAGAATTAG
AGTTGCAACCTGTTGTTATTCATAGCCTCTGTAGCCAATGTTTACGGATGGTGCAACCTCGTGCTGATAAAAAACG
GATTGCTTTATCCCTAGAGTTAGATTATCAGATTGAGCGGGCGCAGTTAGATGAACGACGAGTGCGACAAATTCT
AATTAATTTGCTCTCCAATGCCATTAAATTCACCCCAGAAGAAGGTAAAGTTAAACTCAGTGGAAACCTGCGCTAC
GGTCGTCAGTTATTGCAAGAAGCGCGTCCAGATCGCAGCCCTGTTAATGACAGTACCCCCTATCTCTGTTTAGAA
GTGTCAGACACAGGAATTGGCATTCCCAAAGAGAAACAAGGATTATTATTCCGCCCCTTTCAACAAGTGGATTCT
TCTCTCACCCGTCGCCACGAAGGAACAGGGTTAGGATTGGCTTTAACCAAACGCTTAGCCGAGTTGCACGGTGGC
ACAGTTTCTGTAGAATCAGAAGAAAATGAGGGCAGTATTTTTCGAGTGTGGCTACCCTTAACAGAGTTACGAACG
AAAAAACAAGATTCCCTATCAGAAGGGGCTACGGGGGAAGAAACCCCAGAAGTAATGAATCGTCAGTTGGGTCAA
GATCAACCTGAGACAACCAACAGTCCACGAGTGTTAGTAGTAGAAGACCAACCGTTTAATCAGGCTTTGATTTGT
CAAGTGTTGGAGTTGGAAGGTTATGCAGTGGAAGTGATTTATGATGGGCGCACCATGCAAGAATTAATTGCTGCG
GAACTGCGATCGCGCGGTTTACTCCCCCATCTGATTTTACTCGATATTCAATTGCCTGAAGTGGATGGCTTTGAAC
TTTTAAAGCAACTGCGAAATACACCCTATTGGCAAGATGTTCCTGTAATTGCCATTACCGCGATGGCGATGCCAG
GCGATCGCGATCGGTGTTTGAATGCAGGAGCAGATGACTATATTGCGAAACCCCTGCATTTAGAAACTGTCATTG
AGAAAGTACAACAGTTAATTACAGAAGGTTAG

5. **PCC7418_1045 (4665 นิวคลีโอไทด์)**

ATGAAATTATCGGTTCGATCGCGCTGGATTTTGTTTTTACTAACCCTAGGCGCGATCGCTGGCAACTATTTTAACC
TTCCTCTGTTTTTTCGCGTTGATCTTCTCTTCGGGACGATCTTCGCCCTTACCGTGATCAAACTCTATGGTATCGG
TTGGGGAACATTAGTGGGGTTGCTTGCTGGGAGTTACACCCTCCATTTATGGAGTCATCCTTATGCGATGATTAT
CTTCACCCTTGAGGTGTTCATCGTTGGCTGGCTATTTCATCGACAAGGATTGAAAGATCTCGCCCTAGCAGATGC
GCTTTACTGGCTAATCATCGGTATTCCTTTGATTTGGCTATGTTATGAACATCTCTTAGAGATGAATCCCCCACAA
AGTACATTGATTATCTTCAAGCAACCGATTAACGGGCTCATTAATGCCATCATTGCTAATTTTATTACCAATTACT
TGCCTTGGAATAAATGGCTGCAACGGGAGAATATTGATGATTTTAGACTATCATTCCAGCAAACACTTGCGAATCT
CCTAACGGCTTTCATTTTTGTGCCAGTGATTGTTTTGATGGTTTGGCAGGGGTATATTAATGTTCAGCAAACAGAA

AATCGAGTCGAATCTTATCTCACAACGATTGCTGAGGATACTCTAGCAAGAATGGAGTTGTGGCAACGTCCTTAT
CAACAAGCCTTAGACCAACTTGCTAAATCAGCCCTAGAAGAAGATGTGGTTTCTTTACAAGTCAAAATAGAATTTA
TCCAAGCTGGATTCCCAGATTTCCTAAGAATTTATGCCACTGATTCTCAAGGAACAATTATTGCGAGTTCCACTAA
TAAAAATCAAAGCAAGAATGACTTAATCGGAACAAATATTGCTGAGAAAGACATTTTTCAAAAAACCAGTCGTACC
CTGAAAACTCAAGTGAGTGAAGTTCATCGAGACGAAGCAGATCAAACGCCCCATGTTGGAATTAGTGTTCCCCTT
ATCAATCAGGGTCAATTTCAAGGTTTAGTTTATGGGTCTTTTAATTGGCAAGGATTAAAGCAATTGCTGATCGATG
ATCAACAAAATGATTTATTAACTATAAAAAACGGATCAACAAATAGAATTCTAGCACAATTTACCTTACTCGATCA
AAACCGAAACCTTATTGTCAGCACTCGCGAAGACTCGCAACTGATGAAACCGTTGTCGATTCAAGGAATAACAAA
ACCCATCAGCGATCGCGTTCACTTGAATATTCCCAATCGAGCTTTCCATACTTCAGCAATGATCCAATGGCGGAA
CTCTAGCTATGTTTTAACTATCAGTGGAACGGAACAAGAACCTCTGAGAAATAGTCAACTAATCTCAGGATTGCAA
TTAAGAGTTGAACTCCCCGCAGCCCCTTTTGTGGATAGATTGCAGTATAACTATATCAATTATTTAGCCGTCATGC
TTGGGGTGACAATTTTGGGTTTACTCTTGGCATTTTTCCTCAGCCGTCAACTGGTGAAACCGTTGCAGAAGTTAGC
AGGAGTAACCACTGATTTACCGAATAAAGTCTCAGAAAACCTCAATATTAAGTGGCAGCGATCGCGCATTGCAGA
AGTGGATCATTTGATTACAAACTTTCAACAAATGGCGCTAGTTCTTTCTTATAAATTCCAAGAACTTTCTGAGGCA
AAAGCAACCTTAGAGGCGCGAGTCAAAGAACGCACTAAAAGCCTGACTCAATACAAAATTATTGTTGAAAATTCC
ACCGATGCCATCATGATTAAAGATCTCGATGGAGTCTATCTACTGGTCAACCAAAGTGTTGCGGATTATCTTGGG
TATAAACAACGAGAAATCATTGGTCACACTGATATAGAATTATTTGGGTCAGATGCGGGAAAACAATTACAAGAA
CAAGAACAAATGGTGATGAAATTTAAAAATCAAGAAATTATCACCTATAAAGAAGCACTCCCCACAGTTTATGGAG
AACGGATTTTTCAAACCACTCGCATTCCTTACTATGATGATAATAAAGAAGTTATTGGTATCATTGGCATTTGTCG
AGATATTACAGAGCGAGAACAGACCAATCAACAAATTCAAGAACAAAGTCAAGCCTTAGAAACAGGACTGAGACA
GCAGGTTATTTTATCAGAAATTGCGCTCCAACTGAATTTACTAGAAGACTTTGAATCAACAATTAACTCTGTACTG
CAAAAAATTGGTGAACATACCCAAGTCAGTCGCGTTTATATTTTTGAAGATCAATCGGAAACAGTCACCCATAATA
CATTTGAATGGTGTAACGTGGGGATTACTCCGCACAAAGAACAACTACAACAAGTTAATTATCTTACCGACATTCC
CTCTTGGAAACCCCTTTTATTGCAAGACGGTCGAATTTATTCTGAAGATATTCAAACACTCCCTTGGGATCTCAGA
GTGATTTTAGAATCACAAGCTATTAAATCAATCATTATTTATCCTCTCTATGTGCAAGGGAAATTCTTTGGTTTTA
TTGGATTTGATGAATGTGTTGAAATTCGACAATGGAAACAATCAGAATTAGAACTCTTACGCACTGTAGCCAGCAT
GATTGGTAATGCTTATGAACGTCGTTTAATGGAACAATCGGTCATCGATCAACGGGATAAAGCCAATAAAGCGAA
CCAAGCCAAAAGTGAATTTCTCGCCAATATGAGTCATGAAATTCGCACGCCCATGAATGCCATTATTGGAATGAC
GGGATTGTTACTGGATACCCCATTAAATAACGAGCAAAAAGAATTTACAGAAATCATTCGTAATAGTGGCGATACC
TTGCTGACATTAATTAATGATATTTTAGATTTCTCAAAAATAGAGTCGGGAAAGTTAGCCCTCGAACCAACTCGCT
TTTCCTTACGTCATTGTGTGGAATCCGCGTTAGACTTAGTCACCCAAAAGGCTCTAGAAAAAAACTTAGAATTAGC
GTATTTTGTTGATCCTAATCTGCCTAGTGAAATCTTAGCGGATGAAGCGCGATTACGACAGATTTTGGTGAATTTA

CTCAGTAATGCCGTAAAATTTACCGAGGAAGGAGAAGTTCTGGTGCAAGTGAGTTCTTTATCTCTCTTTTCTGGAA
AAATTCAATTATTATTTGCTGTTCATGATACAGGAGTCGGGATTCCTCCTGATAAAATGAATCGTCTTTTCCGACC
CTTTTCTCAAGTGGATTCCTCTTATACTCGGCGCATGATGGGGAGTGGGTTAGGTTTAGTCATTTCCCGCCGACTT
TCTGAGTTAATGGGAGGACAAATGTGGGTCACCAGTCATGGTGCAATTGCGGGATCAAACCCCAATGATTGGCAA
CCCGAAGAAAATTGTTTACCATTATCGCCCTCATTTGATGTCAACAAGGGATCAACATTTTACTTTACCATGACCT
CGGACGTGGCAACAGCACGCAGAAATTTTGACACACTACAACCGCTAACAGGAAAACAGGTCTTAGTGGTGGATG
ATAGTGCGACCCATCGCCAAGTTTTACAGTTACAACTCCAAAATTGGGAAATGAATGTCCAAACGGCTGCTTCTG
GAAAGTCAGCTTTAACTCTTCTTTCTCAAAATGATTCGTTTGATTTAGCGATTTTAGATACGCAGATACCAGAGAT
GGATGGTTTGACTTTAGCCCAAAAAATCCGTCAGTCTCCTCAAGGAAAACAACTTCCTTTGTTATGTTTAACCGCT
TTAGGAAATGCGCGATCTACACTTAGGGAAAACATGAGTGGTAACTGTATTGCATGGTTAAATAAACCGATTAAG
CAGTCCCAGTTATACAACATTCTTGTTGATCATTTTGTTCCTCATCCCGAACAAACCCTTACTTCTTCTAATCTTT
CGGATACCAATATGAGCCCTCAACTTGCTGACCAATACCCTTTCAAAATCCTCCTTGCTGAAGATAATGTTGTTAA
TCAGAAAGTTGCTTTGCGGATGTTGGAACGTCTAGGCTATCGGGCTGATGTGGTAGCGAATGGGTTAGAAGTGTT
AGAAGCCCTGCGCCGTCAAAGCTATGATGTAATTTTAATGGATGTGCAAATGCCAGAGTTAGATGGGATTTCTAC
AACTCGGCTGATTCGAGAACATAATGATAATTCTGATTATCCTTGGATTATCGCGATGACGGCTAATGCGGTGGG
AGAAGCCAAACAAGCGGGGTTAGAAGCAGGGATGAATGAGTATTTAACGAAGCCTGTTAAACTCGACCAGTTAAG
TCGGGTGTTACAACAAGTCTGTCAGAATCAAAATGCAGTTGCGTCGGATGCTTCGGAGTCAGATGTTAACCTCCC
CCTGATTGATGAACAAATCTTTTGTAATCTAGAAGAGATTATGGATGATCATGAAGAGATGTTGGAATTGATTGAT
AGTTTTTTAGAAGATAGTGAAGCATTAATGAGCGCGATCGCGCAAGCCTATCAAAATCATAATATTCAACAATTGC
AACAGCAAGCTCACGCCCTGAAAGGAAGTAGCGCTAACCTTGGTTTATCTGCTCTTTCTGAAGTCTGTCGGGAAA
TCGATCGTCATGGGAAAGCCCAGCAACTCCCTTCTGCATCATTGATGGAACAACTGCAAACAACTTATCAAGAAA
CGGCGGTTGCTTTGCAGACCAAGCGAAATCATCATGATTCCCGTAAGACATAA

6. PCC7418_1124 (2640 นิวคลีโอไทด์)

ATGTTAGATGCTACTCAACTCGACGCGATCGCGCAGGAAGCTCGGATGTGTTTTCTCTATGAAGATGCACCCGAC
TATCAAACCCAGTTAGAAGCAGGATTATCGGCATTATATAACGGGGAAAATGTATCCGAGGCAATTCACAGCTTA
ATGAAAACCGCCCACTCCCTCAAAGGCGGTGCAGGAATTGCTCAGCTTTCGGATCTGAGTACCCTCGCCCACCAG
TTAGAAGACTTATTAGAAGCCCTCTATCATCAGCGCGTCACAGAAACGGATGTTGCTTATGATTTACTCTGTCAAG

GGGTAGAGGAAGTCAGTGTCGTCATTGCGAATGCTTTACAGAAAGACACGCCACCCACAGCAGTCTCTTCTGAAT
TACTGAGCGCGATCGCGCAATTTCTCGACAGTCTCCCTGAAACAGGAGAAGAAAATCAAGAATCTGATTCAGCTA
CAGCAGAAGCAGAAAGCATTCCTTTTGCGATCATTCAATCAGCTTTAGAAGTAGATTTAGAAGAATGTATCGAAC
GAGTGGAACCGCTTCTAAACGCATCCAGTGATCAACTCATTCCTGCAATACAAAGTTTTTGTGAAGAATGTGTTCT
CCTGGCGGAAACTTTAAGCCTCGATTGGTTACAACAAGATATTCAGCCCTTACAAACTGCTTTAAAAGAGGATCA
CGAAAACCTTTCTAGCATTGCTGAAACCACTCTCAATACTTTACGAGACCATCGCCAACAATGCTTAAACGGGGA
AGCCCTCAGCACCCAATCGGAAACCGTTGATTCAGAAACGTCTCTCCCTGAAGTCACTCCCAGTAATCTCTCTGC
TGATCCCGGATTGAGCTTAAAAATGCCCGTTACTCGGCTCGATCGCATGAGTAACACCTTTGGGGAACTAATTAT
TAACTATGAACGGTTGAACTTAATTAGTCAACAACTGCAAGCAGCCAATCGTTCGTTACATAAACATAGCTTCCAA
CTCTCGCCCATTAAAGAACAAGTCCAAACCTTTTATGACCAACTTGCCACAAACCTGAATTATTTCAATCAAACCC
CAACCAACGATGAATTTGATCCCTTACAACTGGATCAATATAGTCACTTTCATCAAACGTTACAAGACTTTCAAGA
ATTAATGGTACGGGTGCAAGAAAACCGCGCGGATATTGATATTATTGCTCGTGATTTTCAAGACACCTTAGAAGA
ACTCCTCAGCTTTCTTAATACACTTCGGACTGATATTACCAATTCTCGTTTAATTCCATTTAAAACTTACGCCCAA
CGCTTTAATGTTCCCCTACAAAACTTAAATGAACGCTATCATAAATCAGTCCAACTCGTGTTAGAGGGAGAAGATA
CCCTTGTTGATCAAGTTATTTTAGAACAGTTACAAACGCCCTTAACCCATCTGTTTCGGAATGCCTTTGATCATGG
AATTGAAACCACAGAAGAAAGAATAACTGTTGATAAATCGCCCATTGCGACAATTAAATTTCAGGCAAGATTACAA
GGAAATCGAATCCTAATTGATATTAGTGATGATGGTCGCGGAATTAGTTTAGAAAACGTTTTTGCCAAAGCGAAA
GCACAAGGGTTAACCCAACGAGAAAATCCTCAAGAATTAACCCGAGACCAAATTTTAGAATTTCTATTTTTACCGA
ACTTTTCCACCGCAAAAACCGTTTCTGATTTATCGGGTCGCGGAGTCGGTTTAGATGTGGTGCGAATGCAAGTGG
AACGCCTCAACGGTACTGTCAATATTGATTCCACTCTCGGTCAAGGAACAACCTTTACACTTTCGATTCCGCTTAC
TCTGAGTATTTTACCCTTTCTGCTTTGTCGCGCCCAGCAACAAACCCTTGCCATTCCTGCCAGTAAAATTTTAGCC
GTGGTTAGCCTGAAAGAAATGTCAGAGAATCAAACTCTGATTTGGCATCAGCAACGGCTTCCCGTTTATCCTTTAT
TACAATTACTACCCTATCCTGACCCGATTCCCCCCAGTGGTCAAGAACCCATTGGCTTAGTTTTAAATATCAATGA
AACTCTGATTGTTGTGGGAATTGACGGCTTACAAGGAGAACGAGAATTAGTCGTCAAACCCTTTGATCGCACAAT
TCCGGTTCCGCCTTATGTGGCTGGCTGTACGGTTTTAGGAACAGGAGACGTGGTTCCTGTGGTTGACCCCGATTA
TTGGGGTGATCTCTTATCCTTCGTTCAATCGCCAACCCTTGCATCTCATACCACCCATCAAACAGACAAAGATCCA
ACGATTTTAGTCATTGATGATTCGGTAGCGGTTCGACGCAACCTGGAAAGTTTACTCACTAAATCAGGCTATGAC
GTGATTAGTTGTCGCGATGGGAAAGAAGCCACTGCAACCCTTGATGAACCGGGAAAAGAAATTAATGTCGTCATT
TCTGATATTGAAATGCCTCGTTTAGATGGGTTTGGTGTTTTGCAAGCGATCCGGTCTCATTCCCGTTGGCATTCTC
TCCCCGTGATTATGCTAACCTCACGGGAACACGAACGACATCGACAAAAAGCGTTTAGTTTGGGCGCAACGGATT
ATATTGGGAAACCATTTAGTCCGCAAAAGTTACTAACAACGGTTCAACAGTATGCCTTGGAGACGGTAAGATAA

7. PCC7418_1191 (3906 นิวคลีโอไทด์)

ATGCAGCCAACCCAATCCCAAACCCCTGACCGAAACCAATATTTGCAGAACGCAAAAACGAATCTGGAAACCATT
GAGCGTGGGCTACTGAACTTATCTGGTGTGGTGAGACAGCCAGAAACACTCCAGCGTCTTCATAGTGCTGCTGAG
TCTCTGAATACAGGTGCGCTGATTCATGAAATGGAGACGATTCAACAGATTGCTCAGTTTTTTGAGGACTGTTTTG
GGGTCATGCGCACCGCTTCCGTGGTCAGTGATAAACACTTGGAAAATTTATTGTGGCAAGTCTTTGATACTTTTCA
AGGGTTGGTTGAGATGCACGCTATGTCGGAAGAACCCACAGAATACACTGAAGGTGTAGAGCGAGAAGTGTTTAA
GGGACTCCAGCCGAAATTAACCGAAGCGAAAAACTACCTGCAATCTCGAATTTTACATGAGGAAGCAACGGTTAG
TGAACTGACCCCAGAGAGTGACTTCTTCCAGCAGCAAGTGGATGCTGAGTTGAAAGCGATGGAAAGGATTATTGA
GCAAGAAAATCCTTCTCATTACCGCACCGAATTGAAAGAGCATTGTCAGGTGTTGGAGCAAATTGGGGCGCAAGC
GCAATTACCGACTTGGGTGAAACTGTTGAAAACTGCTCAAAGCGCGATCGCGGCAACGGAAAATTCAGTAAAAAC
TGCTACAGAATGCGCGATCGCGGAAATCAGAGAAGCCCAAAGGCTGATTAACAAAGGTCAAGCCTACACCATTAA
ACCCAGTCAGCGCTTAAAAGCAATGTCTTTGCAACTGTCTTCTCCTTGGGATACACAAAACTACGAGGATGACGA
CGAAACTTACTTTGATGATTTCAACGAGGAAGACTTTTCTGGCGCACAAGCCTCCCCAATGTCATCCGAGGGAGA
AGAATTAGATGAAAAAGCAACCATTGCTGATTTAGATGGAATTCCCGAAACGAGCGACTCCGAAGAATACGATTT
CTTGCAAAGCCTTGATCTCGAAACTGACTTGTGGGAGGAAGACAGCATTGACCTTGATCTTCCCGCTACCATTGA
TCATTCCGATGAACATCTCGAATTATGGGATGAACAACAAACGATTACTGAAGAGAGTACAGAATGGTGGAATGA
ACAAGAAACCGCTTTAGAAGACGATGGTGCAGAAGAAAATCTTGAGCAATGGCTGACTGAACAGAGTCAACCAAC
CGATGATGACGAGACATTCTTCGAGGAATTATTTGCTGAAGATCAAGGGAATGAAGACGAGTTGTGGGAAGAAGA
AATTGAGTTAGAACAAGAGACTCCCGCCGAGGATTCGGAAGCATTGAACACTGATGCCTTATGGGGAAGTCTCAA
CTTAGAGGGCTTAGAAGCAGATCAAGAAACCTTGATTGAAGAAGATAACAATCCTGATCAGGAATGGGATGAACT
GTTTGAGGCGTTAGAAGCGGAGAAACAAGACGCTCAAAGTGAAAAAGAAGCAGAGGAACAAGAAGCCCTCTCCCA
ACTAGATGCACTAGATGACGACGATTCCGAAGATCATTTCTCTTGGTCTGAACAAACCTTTGAACCCCTCGAAGAT
CTCGAATCCATTTTTGCCAATGAAGGAGAAAAAACCTTTATTCAAGATCAAGCAGAAGATTCCGCTTTCTCGGAAG
AGGAAGAAGACACCTTTGACCAAACCTATATCCAAGCCTCACCTCTCGAAGAGTTGCGGTCTGCTTGGGATTATT
ACTTAGGGATCGAACAGTTAGACAGTGTCATTGAAGCCCCTGCGATCGCGCAGAGTGAGGAAGACTTTGATCTCA
CCGCCTTAGAAACTTCTATTGAACAAGCCCCAGCACTTCCCCAACCCGAGGAAACTCAGAAGGAAACAACACCAG
CCCAAGCAGCAGCACCGGCTTCCCGAGGAGGAGTGTCTTTATTTGAACAAACGATTAAAGTTCCTGTTCGCCTCA
TGGATAACCTCAATAACTTAATTGGGGAGTTAGTTGTTAACCGCAATAGTCTCGAAAAAGACCAAGAACGCTTAC
GACAATTCTTAGATAATTTATTAGAACAGGTGCAAAACCTCAATGACTTGGGGGTGCGAATGCAAGACCTTTACG
AGCGGTCGTTACTGGAAAACTCCCTGCTGATGAGTAAATCTTACAGTACCAATAAAATGGCAACAGCAGGGAACA

ACCATGGCGATGGCAGTAGTTCCAATTCCAACTCTTATGATGAGGAGTACAACCCCCTAGAAATGGACCGCTTTA
GTGGCTTCCACTTGCTGTCTCAAGAAATGATTGAGTTGATCGTGCGAGTTCGCGAATCCACCTCTGATATTGAATT
TTTAGTGGATGAAGTGGAACAAGAAGCACGACTGTTCCGCCAAGTGACGACACAATTACAAGAAGGCTTTACTGA
AGCTCGCATGGTTCCCTTTTCTCAAGTCGCAGATCGCTTACCACGGGCGGTACGGGATATTTCCCTGAAATTAAA
TAAGAAAGCCAAACTGGAAGTGGAAGGGAAAGATACATTGGTGGATAAGATGATTCTGGAGCAACTCTATGATCC
AATGACGCATTTAGTGAACAATGCGATTACTCATGGGATTGAGTCGCCAGAAGAACGTCAGCACTTTGGGAAACC
AGAAACGGGAACAATTAAAGTGGAAGCCCATCACCAAGGGAATCAAAGTATTATTTCCATTTCTGATGATGGCGC
TGGGCTCGATCCGGTACGAATTCGACGGAAAGCAGTAGAAAAAGGCTTAATTTCTAAAGCAGAAGCGAGCGCTCT
CCCTGATATTGATATCTTTGACTTTATCTTTCATCCAGGATTTAGTACCAAGGATAAAGCTGATGACTTCGCAGGA
CGGGGTGTGGGAATGGATGTAGTGCGTTCTTCTTTGAGTAAACTACGGGGAAGTATTAATATTGACTCTTCCCTA
GGGAAAGGAACGACATTTACCATTGGTTTACCCCTGACCTTAAGTATTACGACCGCCCTCTGTTGTAAATTGAATC
AATCCGATCTGGCTTTCCCAATGGATGGGGTGGAAGACAAGTTTGAAACCACTAAAGACAATATCAAGATCAACC
AAAACGGGGAACGCTTCATTCGCTGGCAAAAGAGTTCTACCTTACTCCCCTTTAAGCCCTTATCAGAACTCCTCTC
CTATAATCGTACCCTCACTCGTAGTAATCTCTTTGCTGCTCAAGCAGAAAGTGATGAAATGTCGATTGTCGTTCTA
CGCAGTACCGGCAATTTAGTCGCTGTGCAAGTGGATCAAGTGCTGGGACAACAAGAAATTGTAATTAAACAACTC
GCTGGTCCGATTCCCAAACCGTTAGGAATTGCTGGGGTTACGGTGACCTCGGATGGCAGTGTGATGGCGATTGCG
GATGTTTTAGAATTAATTGACCTCTTCTACGGACGAGTCCGAAAAGATGTTATGAACTCCATGTTGGCGCAGCAA
GAACAAGCAGCAGAACAACAAGCGGGTGACGCTGAACCAATGGTGTTGATTGTGGATGACTCGATTACAGTACGA
GAACTCCTCTCGATGACTTTCTCCAAAGCGGGATATCGGGTTGAACAAGCCCGTGACGGTAAAGATGCTTGGGAA
AAACTGCGAGCAGGTTTAGCTTGCGACATGATGTTCTGTGATATTGAAATGCCCCGAATGGACGGGTTAGAATTA
TTGTCTCGGGTAAAAGAAGAAGAGCGATTTGCCGATTTACCTGTGGGAATGCTAACCTCGCGGGGCGCGGAACGT
CATCGTCAAATGGCAACTCGTCTCGGTGCAAAAGGATACTTTACCAAACCCTATCTGGAAGAGGTGTTGTTAGAT
GCAGCGAAACGGATGTTAGAAGGAGAAAATTTAATGGATCGTAAAGCAACCAGTGCTGCATCTCAGTCATGA

8. PCC7418_1731 (3273 นิวคลีโอไทด์)

ATGAAAAAATTTCCATTCCTCCGCCCTCAAATCTCTCTGCGCTGGCTATTATTAAGTCTTTGTCTGCTGCAAACGG
TGGGGGCGATGGGATTAGTGGGCTATTTATCTTATCGCAGTGGCGAAAAAACCGTTGAAGATCTTGCCAATCAAC
TCTTAAAAGAAAATAGCAAGCACGTTATCCAAGATACGAATTACTATTTAAGATTTATCTACCAGATCAATCAAAC
GGATCTCCCTCTCGATCAATCCCATGACAACAGTCTTGATGAGTTAGACCCCATTCATCGTTACTTTGTTCACCAA
CAGCAAAATTTTCCCACAATTACTATGATGACGTTTGTTCGTCCTAATGGGGAAATGTTGGTCACTCATCGCATCA
GTGAAACCCAACTTGAAGCAGGACGATCTGATCACAATCATCCTCAGACAGTTGAAATTCATGCCATTCAGGAGG

ATGGGACATTAGGAAAGCAGTTACGAACCATCCACAATTTTGATATTCGTGAGAAGGATTGGTATCGTCAAGCGG
TAGAAACAGGGAAAAATGGCTGGAGTACACCGTTTCCGATGACGGTTCATCATAATCTTCTGGGGATCAATACCT
ATACTCCTTTGTATGGAACGGCTGGAAACTTACAAGGGGTATTTGCAGTGGGCTTTAGTTTAGAACGATTAAATCA
GTTTCTTGCGGAACGAGCCATTGGAGAACAAGGACAAGTTTTTATCATCCAACGGGATGGCTTATTAATTGCTAAT
TCCACTACAGATCCCCTATCTTATACGCCTGAGCCACCCTTGCTTCGTTCTCAACCGAAAACAGAACTGGAACGG
ATTTCTGGAACAGACAAAACTGACCCGATTCTTAACAAGAGTACCCAACAATTGAAAGCTCAGTTGGGTTCGTTAA
CCAATATTCAATCTCTACAAACGTTATCGGTTGAAATTGATAACATTCATCATTATTTGCAGGTGATTCCCTTTGA
AAATCCTTACAGCTTTGATTGGCTCGTGGTCAGCGTCGTCCCTCAGTCTGAGTTTATTGGAACGTTACAAGCCAAT
CGTAATCGCACTTTAGTGATTGGAGGAGCGATTATATTGACTGTAACCACTTTAACGCTGATCGTTGCTCATCGCA
TTACCAGAGCTTTACGGCGGTTAACGGAGGGGAGTGAAGTGATTGCAGGAGGGAATTGGCAGCAATCCATTGCTG
AAACTTGCAGGATTAGAGAATTGAACTCCCTTGCTCGTTCTTATAATCGCATGGGAACAGAAATTCAACAAAGCTA
TGATCATCTCAACGCAACACTCAATCAGTTAAAAGCCAGTCATCAACGGCTAGAACAATTTTTAGAAGCGATTCCT
GTGGGGATTGGGATTATTGATGCTAAGGGTCAACCTTGTTATACCAATCAACGGGCGGTGGCGTTTTTGGGAAAA
GGAACAGTTCCTGTTGACAGGATTGCTGATATTCCAGAAGTCTATCAACTTTATATTGCAGAAACCGATCAACTCT
ATCCCTATGAACAATTAGCTGTTGTTCGCGCCTTGAAGGGAGAGTCAGCAAGTAATCATGATGTGGAAATTCATTT
GCGCGATCGCGTTGTCCCGATCGAAACTTGGGGAACGCCAATTTATAATCCAGAAGGAGAGATTGAATACGCCCT
CGTTGCTTTTCAAGATATTACAGAACGCAAATTGTCGGAACGTCAGCTTTTGGAGTTGTCAGAACGTCTGGAGTTA
TCTTTAGCTGCGGGTCGAATTGGTTCTTGGGAATGGGATCTCACCGCAGACCAAGTGATTTGGGATGAGCGGATG
TATGAAATTTATGCGGTTGCGCCCTCTATTGATCCGAAGACAATTCCTGAGATTTGGTTCTCTCGCATTCATCCCC
AACAGCGCGATCGCGTTAAACAATTATGCCAAGAAGCCATTTCCGAACAAACCTCTCTCGATACTGAATTTTCCAT
TGTTCTCCCTGATCACAGCATCCGTTTTATTAAATCTTATGGCTTGATCCGTCGAGATGCTCAGGGGAATTCTCAA
GCCATGATTGGGGTGAATTTCGACATTACAGAATTGAAAAACGCCCAAATGGAGTTAGAGAAAGTGAACGCGGAA
TTGGTGCAAGCCAATCGCCTCAAAGATGAATTTCTCGCCACGATGAATCATGAACTCCGCACTCCTCTTAATGCC
ATTTTAGGGATGACGGAAGCTCTAGAAAAAGAAACCTTGGGTGCGATGAACCCGCGACAACATAAAACCTTACAA
GTGATTCAGCGCAGTGGTTCTCATTTGCTGGAAATCGTGAATGACATTCTCGATCTCTCCAAAATTGAATCGGGA
AAACAAGAGTTGCACTATAGTGATACTTCGGTTCTAGAACTTTGTCAAAGCGCGATCGCGCTGATACAACCGCAA
GCGGATCAAAAGCAGTTACAACTCCAAACCCAGTTTCCCTTTCCTCTTCTCAAGATCTGGGTAGAAGAACGCCTC
CTGCGCCAAGTGCTAATCAACTTACTCAGTAACGCCGTTAAATTTACCCCTCAAGGTGGAAAAATTACTCTTGAAG
TGTTATTTCCTGTTCCTCAAGGAGAAAATTGGCTCACCTTTGCTGTTCGTGATACAGGAATTGGGATTGCAGAAAC
AAACTTACCAAAAATCTTTCAACCCTTTGTCCAAATTGATAGCGCCCTCAACCGAAAATATCAAGGAACAGGAATT
GGACTTTCTCTGGTCAAGCGCATTATTGAACTCCATGGGGGAAAGTCAGAGTGACCAGTCAAGAAGGAATCGGAA
CTTGTTTTTATCTGGATCTCCCTTGTGTGATGCTTCCTCAGAACGCCCTTAGTCAATCTCTCTCTTCAAATGCAGC

CCGAGAAAAGACTTCTCTGATTTTAGTCCTTGAACAGGATGAAGCAGAATTGATGACCATCAATGATTATCTCGAA
GCGAAAGGCTATCGTCTGCTGTTAGCACAAACGGAAGAGCAAGCCATAGCCTTGGCTACCTCTCACTCTCCCCAT
CTCGTGCTGGTGACGTGGCAACAATCCACTCCACCCCCCTTAAAATTAATCCAAACGATTCGCAATCAAGGTCAC
TTAGAGATGACTCCTTTGATCGCGATCGCGCCTGAACCCCTATCCGATTATCACTCCGACTTGGGAACAGAAGGG
ATCAAGTATCTCAGTCAGCCGATTAAACTCAAAGCCTTGGCACAAGCGATTCAGGAAGTCATGGAGTGGGGTAGA
AGATCACGCAATCATCGCATCTAA

9. **PCC7418_1732 (4188 นิวคลีโอไทด์)**

ATGATGATTAATCGCACCCCCATTGTTTCCCCACAAGCCCTCCAATCAGCGATCATCCGTGATTTTTTAGTGATTT
CGCCTGAAACGCCAATCGAGGAAGCAATCATCAAGCTAACGGGTCAATCTCCTTATGCCAGAATAGCAAAGCATG
AACAGGATAACCGACAGTTAGAACTTGGGTCAAGTTGTCTGGTTACTCTTGCTGAAGGAAGGAGAGTTGGTTTGG
TGACTGACAAGGAGTTATTAAGAATAAGTCATCAAGAAGAGGAATTACAGAGGCGACAGATAGCAGAGGTGAGCA
GTGCACCCGTAATGACTTTACAGCACTCTCAGGTGACGGATCTATTGAGTATCATTAATCTTTTTCAGCAGCCTAA
CTTGCACCATTTGCCCATTTTAGATGAACAGAATCAGTTTGTTGGGTTAGTCACTCCAGAAAGCCTAATCAAAGTT
ACAAAACCTGTTGCGTTTTGGGAAAAATGGACAGTAGAAAGGGTCATGAAATCAGACATCCCCATCGCCACAGCA
GAAACGACCCTTGATCAAATTACGGAACAGATGATCACCACTGACCCAGAAGTAATAGTGATTGTCAATAGAGAT
GCAATCCCACAGGGATTAATTACAGCAAAAGATCTCCTTCAACAGCAAGGGTTAGGTTTCAATCCTCAACAACAC
TTAGCGCAAGACCTTCTGACTTCTCCTCCAGTGACCGTTCAACCTCAAGATTCCTTGTTGAAAGTTGCTGAGATCA
TGCTTGAATACCAGATCGCTCAAGTGGTAGTCACAGGAAAAAGAGGAGAAGAATTAGGATTAGTGAGTGCTAGAG
AGTTAATAGAAACCCTTCATCCCCAAGCCCTCTATCGCTTAGCAGAAACACTAAATCAGCAACTGGATCAGGAAG
TTTCTTCCTGTCAAAGCCAATTACAAATACAACGACAACAGCAAAAACAAACGAAAATTGCTCTTGAATTTAGCAA
CAATCGGTTTCGGGGTATCTTTGAAAATACGTTTCAGTTTATTGGCTTACTCTCCCCCGATGGAGTGTTGTTAGAA
GCCAATCAAACCGCCCTCAATGCAGCAGGAATTAAACGAGAAGATGCAGTCGGACACCCTTTTGGGAAACCCCCT
GGTGGCAAATTTCTGACTCCGCTCAGGTGGAATTGCGAAACGCCATTACTCGGGCTGCTCAAGGAGAATTTATCC
GTTATGAAGTGGAAGTTTTGGGGGCGAATCAAACCATGATTCCCATTGACTTCTCTCTTCGTCCGATTCAAGATGA
TCAGGGAGCGGTGATTCTGCTCATTCCCGAAGGTCGAGATCTCACCGAAGCGAAACGGTTAGAAGTGGAACGCCA
ACAAACCGTTAACTTATTGCAAGCAAGCAAACGACGCTATGCCAGTTTAGTGAAAGCCTCTCCTGTTGGGATTTTT
CGTTGTGATACTGTTGGCAACTGTATTTATACCAATCAAGTGGCTTGCAAAATTCTGGGACTTTCTTCTGAACAAA
TGAAAGGAAAAGGATGGCAACAAGCTCTACATCCTGACGATCGCGCACAAGTGATCACCGAATGGCGTGAGGCAA

TTACCGAAAATCGCTCCTTTCAAATGGAATATCGTTTTCTGCGCCCTGATGGTAGTGTGAAATGGGTTTATGGACA
AAGCGCGATCGAGCGCGATCGTAATCAGCAAGTACATGGTTATATTGGGACAATTACAGATATCAGCGATCGTAA
AGAAGCGGAATTAGAACGCCAATGGGCAAACAACCGCTTACAAGAATTGAACGAACAACTAGAAGCAAAAGTTGA
AGAACGGACGGCGACCTTAAGAAAGCGAGAAGCAGAACTCCAAGATTTCTTTGATAATGCTCATGATTTAATTCA
AAGCGTTTGTTTAACAACTGGCAAGTTTGAATATGTGAATCGCTCTTGGCGTAAAGTTCTGGGCTATTCCCTAGAA
GAAGTCGCAAGGCTAACCCTGTTTGATGTGCTGCATCCAGACTGTCATGATCATTGTCGGGAAGTCTTAACGGAA
ATGAGAAACGGTCGCTTAACCCAGGTTGAGCAAATTGAAGTGATTTTCTTGAGTAAAGCGGGACAAGAAATTATT
TTAGAGGGGGGGATTAATTGTCGCTGGGAAGGAGAACAACCGATCGCGACTCGTGCCATTTTTCGCGATATAACT
CAACGCAAACGAACAGAACAAGAAATTCGTCTGTTGCAAGAACGTCTTCAATATCTGCTGAACTCCAATCCAGCG
ATGATCTATAGTTGTCAGCCCCATGGCAATTATGATGCAACCTTTATGAGCGAAAATGTGGTCAATATCTTAGGCT
ATCAACCGCAAGACTTTACCGAGATAGAGAATTTTTGGGCGAATCACATTCATCCTGAGGATCAGGATGAAGTGT
TAGCAGGGGTCTCTCAGTTATGGGAAGTGGATGACTATAAACAGGAATATCGGTTTCTCCATAGTCAGGGCTATT
ACATTTGGATGCGAGATGAGTGCAGATTAGTCCGAGACGAAGCGGGAAATCCTGTTGAAATTATTGGTTATTTTG
CCGATATTACTGAGCAGAAGCAAACTGAACAAGCAATTCGAGAATCTCAGGAGTTCTTGAAAAGTGTGTTAACAG
TGTTTCCCTTGTACCTGTTTTGGAAAAATACAGAGTCGGTTTATTTGGGATGTAATGAAAATTTTGCGATTGCTGC
TGGGGTTTCTAGCCCAGAAGAAATTATTGGCAAAACCGATTATGATTTACCTTGGACAGAAGCACAAACAGATGC
TTATCTCGCAGATGATCAAGAAGTAATTATCTCTGGAACGCCCAAATTGGGGTATCTGGAAACACAACGACAAGC
CAATGGTCAGCAAATCTGGGTGGAAACCAGTAAAGTTCCGCTTTATGACGGTAATGGTGAAATCATCGGAGTTTT
AGGAACATATCAGGATATTACGGCTCGCAAAGAAGCAGAAGAACAATTGCAACGAACCAACGAAGCATTAATTCG
CGCCACACAACTAAAAGATGAGTTTCTTGCCAATATGAGTCATGAACTGCGGACTCCTCTTAATGCCATTCTAGG
GATGACAGAAGGTTTACAAGAAAAGGTTTATGGGCAAATTAATGAGAAACAAGCTAAAGCCCTCAAAACCATTCA
AACCAGTGGGTCTCATTTATTAGAACTGATTAACGATATTCTTGATCTGTCTAAAATTGAATCGGGACAGATGGAG
TTGCGCTGTGCAGAAACAGAAATTTCTAACCTTTGTCAATCCGCATTCGTTTTTATTCAGCAACAAGCCTATAAAA
AACGAATTCAGTTTAGCGCCCAACTCCCTACGCAGTTACCGAGCTTATTTGTGGATGAACGGAGAATACGCCAAG
TTTTGATTAATTTATTGACCAATGCCGTGAAATTTACTCCCGAGGGAGGACAAATTACTTTAGAAGTCAATTATAG
TGCAACCAGTGAGCCAGAAAAACCAAGCGCTGAAGACTATATTCGCTTTACCGTTTGTGATACGGGAATTGGCAT
TGCAGCGGAAAACTTTCAGCGTCTTTTTCAACCCTTTATTCAAATTGATAGCAGCCTCAACCGTCGTTACGAAGGA
ACTGGCTTAGGACTATCTTTAGTGAAACGTATTGTCGAACTTCATGGGGGAGATGTGGGGGTCAGGAGTGAAGTG
GGAGTGGGAAGTTGTTTTTATTTTGATTTGCCTTTAGCCTGCGCGATCGCGCCTCCTGAATCCTTATCTATGCAAT
CAGAGGTGAATGGGGAAACATCTTCTTCTTTAACTGAGGAAATGCCTTTAATTTTACTGGCTGAGGATAATGAGG
CAAATGTCATGACGCTGACCAGTTACTTAGAAGCAAAAGGCTACCGTCTCCTTGTGGCGAGTAATGGCGAGGAAG
CGATTCAACTTGCAAATACTAACGCCCCTGATGTCGTTGTGATGGATATTCAAATGCCCGATCTCGATGGTTTAGA

AGCCATTCAACAGATTCGATCCGCTTCTGAAATTCCGAATGTCCCCATTATTGCCCTTACTGCTTTTGCCATGGAA
GGCGATCGCGATCGCTGCTTAGAAGCAGGAGCAGATGGGTATCTCAGTAAACCCGTCCGTCTCCGAGAATTGGTA
AAACTGATCGAGCAGCAGCTAGGGAGTTTTAAACTGCCATGA

10. PCC7418_2221 (2766 นิวคลีโอไทด์)

ATGTTAGAAAAATTTACTAGCATCTCAGACAGTCGCACTAATCTCACAGAAGGCGATGCGATGAAAGTTGCTCAA
ATTCTGGAAGCCAGCCCCAACGAAGTTTATATTGTTGATCGGACGACGTTAACCATTGAATATGCCAACCCGAGG
GCAACTCGTAACCTTGGGTATTCTCTAGAAACCTTACAGAAGATGACGGTGTTTGATATTGCTACGGACTTAAATG
CCGTCGATTTCAATGAATTAGTCACTCCTTTAATTAATCATGAAGTGACACAGATGAATTTAGAGACTATTCATCG
TCGTGCTGATGGCAGTATCTATCCGATTGAGGTGTATTTACAATTAGTTGAAAAAGCAGAAAAACTCTCTTTTTTT
GCGATTATTATTGATATAACAGAACGGAAAAATGTGGAGCAATCGTTACAAGATAAAAGTAAAGAATTAGCCAAT
GTAGCAAATAATATTCCAGGGGCGATTTATCGATTACATTACTTTGGGGATGGAACAATTGATGTTGAATATGTCA
GCGATCGCGCAGCAGAAATCTTAGAAGTTTCCCTCAGTGATCTTTATGCAGATTTTAATCATTTTATCAATTTAGT
TCATGAAGCCGATCGCGATCGGTTTTCCCTCTTCCTACAAAATGGCTTCACTGATTTAACCCCGTCTTGCTGGGAA
GGGCGTTTAGTTACGCCATCTCAAGGTTTAATTTGGATTCAAGTTTGTTCACAAGCCCAACAACAGAGCGATGGA
TCCGTGATGCGGTATGGTGTTTTATTGGATATTACTGCACAAAAACAAGCGGAATTAGCGTTACAAGAAAGTGAA
GAAAAATTCCGTCAATTTGCAGAAAATATTGATGATATTTTTTGGATGATTGATCCCCATTTAAAGCAGCTATTTT
ATGTTAGTCCCGCTTATGAAAAAATTTGGGGTTATCCTCCAGATGCTGTGCTGGAAAATCCGCTAAATTTTCTCCA
ACGGATTCACCCTGACGATCGACCCACTGTGGAGAAAGTGATTAGCCAACCGATTTTAGAAAAACATGATACTGA
ATATCGGATTATTCGTTCTGATGGTGAAATTCGTTGGTTGCGCGATCGCGCTTTTCCAATTAAAAATCAAGCAGGA
GAAATTGATCGAGTTGCGGGGATTGCCCAAGATATTACAGAAGAAAAACAAGCGCAAGCAGAAATTCATCATAAC
CGAGAATTAAAAGAAGTCATTTTTGATGAAGCAACAGACGCGCTATTTTTAATTAATCCTGAAACCTTTACAATTG
TCGATTGCAATCGCAGAGCAGTGGAGTTATCCCAAGCGGAAAGTAAAGAACAACTCTTGCATCAACCAGCCGATT
ACTTGTATAAAAAAACATTATCACAAGTTAAACAACTGATTCAAGAAGAAGGAACTTGGACAGAAGAAATTATTAT
TCGGACATTGCATGGACAGGAATTTTGGGGAGATGTTGCTTGGACAGAAATTCAGGTGAATCAAACGTCAATGTA
TTTAGTGCGTGTGACTGATATCAGTGATCAAAAAGCCTTTGAAGCCGAATTAAAAACCACTAATGAATGTTTAGAA
TTAACCAATCAGGAATTAGAACGAGCAACGAAGTTAAAAGACGAATTTCTGGCGAGTATGAGTCATGAAATTAGA
ACCCCTCTCAATGCTATTTTAGGGATGTCAGAGGCTTTAAAAGAAGGGGCTTTTGCAGCCATTAATGAGCAACAA
CAACAAGCAGTAAAAACAATTGATACTAGTGCGAGACATTTATTAGCTTTAATCAATGACATTCTCGATTTAGCAA
AAATACAATCGGGAACCGCCACCTTAAACTTTGAACAAGTTAATATTAAAGCCTTATGTGAAAGTAGTTTCACTTT

TATTTCTCAACTGGCTTCTCGTAAAGGAATTGACTTAAAAATTCAAATTAATACTGCTGCAAATCGTCTGAATACA
GATGAATTACGGATGCGACAAATTCTGATTAATTTACTCAGTAATGCGGTTAAATTTACAGATAAAGGTGGAAAAG
TTACCCTAACGGTAACGGAAGATTATTATCGAGAAAATATTTTATTTAATGTTAGTGATACAGGAATCGGTATTCC
CCAAAACGAAATCCCTCAATTATTTGAACCGTTTGTGCAATTAAATAGTGAATTCAATCGTAACCATGGCGGAACT
GGACTCGGGTTATCTTTAGTGCGTCGCATTACAGAATTACTCGGTGGAAGCATTGGGGTTGAAAGTGAGGTGGGG
AAAGGAAGCACGTTTTCTGTTAAGTTACCCTACACCGATGTCTATTGTATTTCTGGTGAAGTTTCTGGTGAAGTCA
GTTCTCACTTATCAGATCAACAGCTGAATCAGATCTATCCTTCTTCCCCAATCTTAGTCGCCAATTCCGATCAACC
CACCCTTGATACCACCTGTAGTTATTTCGAGGCTTCTGGTTATGAAGTGCTGGCGATCAATACCATGGAACACTTG
TTCTCAACATTGTCGGCGGTGACACCGCAAATCATTATCATTGATTTATCCAGTTTTGAAGTGACAGCAGAAAGCA
TTATCCCCTCCCTCAGACAAATCACTGAGTTAGAAAAAACACCAATTTTTCTTCTCATTACACAAATAGAATCGGT
TGAGATAGAAGAGAAACTGGGGGCTTTTGAAGCGAGTTATTATTTAGTGAAGCCTATTCGCTTACGGAACTTACT
GAATCAGGTTCAGAAACATTTAATCGAGGAATTTCAATGGTAA

11. PCC7418_2725 (4437 นิวคลีโอไทด์)

ATGAGACTCAAAAAAATCCCCCTTTATCTTGCTTTTGCTGTTCCCTTTACGCTACAAGTTTTAGGGATTGTGGGTT
TGGTGGGGTATTGGTCTTATCGCAGTGGACAAAAAGCAGTGGAAGAAATGGCGTATCAATTGACTCGCGAAACGG
GACAGCGAGTGACCAATGAATTAGATCATTATCTGGGTCTTACTCATCGGGTCAATCAACTGAATATTGCTGCGTT
AGAGTCTGGTACGATTAATGTGAATGACTTAGATGCGCTCCACCGCCACCTAATTGCACAACATCAAGAATTACC
AGAAATAACCAGTCTTCATTTGGGTACGCCTGCGGGCGAGTTTTTAGTGGTTCATCGGGTCAGCCCTGCGGAAGT
GGAAGCGGGATTGACAAAAATTAAACCGACAGATCTGCCTTTTGAAGTTGGACGTTCTGATCCCGATGATCTGGC
GCGATTAAATCTTTACAGTATTAATCAAACTGGAGAAATAACGAGATATTTAAACAGCATTGAAAATCTTGATGTC
CGTCAGCGTCCTGGTATCGTCGTGCAGCAGAAACAGCAACGCCTGGATGGAGTGACCCGTTTCAAATTGGCGCAT
CCAATCTCCTGACAATCAATGCTTACGCTCCGTTTTATAACGCCTCACAAGATTTAAGAGGAGTTTTTTCAGTCAA
TGTCAGTCTGGAAACTTTCAGTCACTTTCTGGAGAGTTTATCCGTTGGAAAAAGTGGACAAGTTTTTATTGTCGAA
CGTAATGGTTTGTTGGTTGCGAATTCGGTTGGGGAATCTTCTTATATTTCTTCTCAAGTAGATTCTAGTCTCAATC
AGCCTGGAAATATTAAGTTCCGTCGCCTATCTGCTGAGGAAAGTTCTAATGCTGTTATCCAAAGTGTAACTCAGCA
ATTAAAGCAGCAATTAGGGAGTCTGACAGAGATTGCATCCTCACAAGAAGTAGAGGTTGAGATTAATCAGTCTAG
AACCAGTGAAGAACGGCATTTTCTAGAAGTTGTTCCCTATCAAGATGATTATGGCTTAGATTGGCTGATTGTTACC
GTTGTTCCAGAATCAGACTTTATGGGGGCGATTGATGCTAATGTTCAACGGACTGCTGGTTTGTGTGGTTTGGCT
TTAGTGGGGTCGTTAGGGTTTGGCTGGTGGAGTTTGCGACGGATCGCGCGATCGCTGCGTGCATTAATCAGGCAA

GTCAAGACATTGCACAAGGGAATTTTCAGACTTCGTTTCCTTCCAGTCAGATCGCAGAAGTGGAAGGACTATCGG
TTTCTTTTCGCCAAATGGCATACTCACTACAAATGGCAAAAGCATTCCGTGATCAGTATGAACAAATTTTAGAACA
ACAGATTGAGAATAAAACAGCAGCACTGAAAGAAAAGAAAGCGCAATTGGAAATTATTACGGACTCGATTCCAGG
TTGTATTTCTTATACGGATTCTTCTCTACGCTATCAGTTTGTGAATCAAACCTATGAGGATTGGTTTGACTGTCGC
AAAGAGGATATTATCGGACGCAGGATTCCTGATGTAATTGGTCTGGATGCTTATCATCGTGTCGAATCTGATGTG
AAACGCGCTCTTGCGGGAGAAACTGTGAGTTATGAAGCAGAGTTAACGTTTCAGAATGGAGAAACCCGCTATGTA
TTTGAGGTGTTAGTCCCGAATTTTGATCCGACGGGAAACGTTGATGGCTACTATGCAATGATTACTGACATCACC
GCCCGTCAAGAAGCGGAAATGGCTCTACAAGAAACCACAAAGGAACTAGAAGCCCTCCTAGACAACGCCCCAGCA
ACAGTTAGTCTTTTCGATGCGAATGGGTGTTATTTACGAGTGAATCCTGCTGTGGCTCAGGTGCTCGGTGTTCCC
CAGTCTGAGATAATTGGGAAAACCTTTGCCGATTTTTTCCCAGAAGCAACGGTGAGGCTCTTTCAGTCTCGCATC
CAAACCCTGATGGAAACTCAGCAACCGCTACAAGTGGAAGATGAAGTGATCAGCGCTAATGGAAATCAGATCATC
TTTGAGTCGATCTTATTTCCGATTATTAATGAGGAAGGGGAAGCAGCTAAATTTTGCGCGATCGCGCAGGATGTT
ACGGAACGCAAACAAGCCGAAATTAAGTTAGAAACCAAAACACAAGAGTTAGATCGCTTTTTCTCCCTCGCTTTA
GATCTCCTCTGTATTGCGAACACTGATGGCTATTTCCTGCGTTTAAATCGTCAATGGGAACAAACCCTCGGCTATT
CTTTATCAGAGTTAGAAGGCGCACGATTTGCAAATTATGTTCATCCCGATGACTTAGACAGTACCCTTGCAGCCCT
TAATCATTTAAAAGAAGGGGGAGAAATTATCAACTTTGTTAATCGCTATCTGTGCCAAGATGGATCTTATTGTTGG
ATTGAGTGGCGAGCCGTCCCCTCAGGGAACTTAATTTATTCTGCAGCGAGAGAGATCACGGAGCGTAAAGAAGTC
GAAGCTGAACTCAGGGCTGCTAAAGAAACCGCAGAAATGGCTGCTCAGACTAAAAGTGAGTTTCTTGCCACCATG
AGTCATGAAATTCGCACGCCGATCAATGGTGTGATTGGAATGTTACACCTTTTACAAGATACTGAACTGACATTTC
AGCAGCGATCGCAGCTTGAGATTGCTCAATCGAGTGCAACGTCCCTACTCGGAATTATTAATGACATTCTCGATTT
CTCAAAAGTTGATTCTGGCAATTTGAAATTAGAAACGGTAGAGTTTGATTTGATTGCACTCTTAGAAGACTTTGCC
AAAACCATGGCACTTCCCGCTCAAGAGAAAGACTTAGAACTGATCTTAGATGTTAGTCAGATTCAACAGCCTGTT
GTCAAAGGCGATCCCTCACGGTTACGGCAAATTTTCACCAACCTTGTCAGTAATGCTATTAAATTTACCCAAGCAG
GGGAAATCTTAATCAAATGTTATCTGGAAACCGTAGGCGAACAACTCAGACTGATCGGAATCGTTAAAGATACGG
GAATGGGAATCCCAGAAGACAAGCAAGGGAGTTTATTTGACCCCTTTACCCAAGCAGATGCGAGTACCACACGCC
AATATGGGGGAACAGGTTTAGGGCTTGCGATTGTAAAAAGACTCTGTGATTTAATGGATGGCGCGATCGCGCTGG
AAAGTAAACTTGATGAAGGCAGTTGTTTCACCTTTACTGTCACCCTAGAAGCTAGCACCGCCCAACCCACACTCA
CAAGGGATCTGCAAGGCTTAAGCATTTTAGTGGTCGCTGAAAATGGGGCAACCCAACAAGCACTTTCCCGTCAAC
TGCAAGCATGGGGCGCAACCGTCAGCACTGCTTCCGATTCTGCAACCGCGCTTTCCTTATGTTCTCAATTTAGGG
AAACTCCACCCTTTGCAATTGCCATATTGGACTCCAATCTTCCTGATTTAGAAGTACAGGATTTGATCCAACAGTG
GCAAGCCGATTCCCGTTTACAGAGCATGGCAATTGTGATGATGATGGCAATTAATCAGGTTAACCAGTCTCACTC
ATTAACCCATCTCGGGATGAGAGCAACAGTAACCAAACCAGTTGTCCCTTCTCAGTTATGGCAGGTTTTAACCCA

GTTATCTGAAAATCAAACAACCCTGACTCAACCCGTTTCTACTTCGCAAACAGTCATCCCATCCCCTCAACTCAAA
TCAAACTCCTGTGTGCTCGTTGTCGAAGATAATCGTGTCAATCAATTGGTGATCCAAGGGATGCTCAAAAAATACC
CCTTGCAGGTTCAAATTGCTCATGATGGTTTGGAAGCCTTAGTGATGCTACAAAAATCCCATTACGATCTGGTGTT
CATGGATTGTCAGATGCCCAACATGGATGGTTATGAAGCTACTCGTCAAATTCGAGCGGGTAAACACAATCAAAC
GATTCCGATTATTGCGATGACGGCTTATGCAATGGTAGGAGACAAAGAGAAATGTTTAGCAGCAGGAATGAATGA
TTATGTCAGTAAACCGATTGCTGTGGAACAGGTCAAGGCAGTCTTAGAACAATGGTTAACCGAGCATGAAACCCC
TGCCCTTGATCCGAAAGCATTTCAAGAACTTTTAAACGCTGTCGGAGAAGATGATTCCGAAATCATTTTAGAAATT
TTACAGGAATTTGAGGAAAATCTCACACAGTTAATTGAGAGGATTCTAGAAACAACAGAAGCAGAAGATTCCTTA
GCCTTACAAAACGCAGTTCATACCCTGAAAGGGACAAGTGCAACCATGGGCGCGTTGGGCTTACGGGATTATTGT
CAAGAAATCGAAAGGATCATCAAAATGGGAAACCTCCCAGATTCCCAATTAATCGAAGCCTTAAAAGAAGAAAGT
AAACAGGTTGAGAAAGCCCTCATCACTAAAATTAAATACTATAGCACTACACTTGCGCTATAA

12. PCC7418_2951 (4704 นิวคลีโอไทด์)

ATGTCTCAGCTTTTCCTTGACCCAAAATTGGACAGTGCTATTCAAAAAGATCCTTTGTTACTTGCCCCTGAAGTAT
CTCTCTTATCAGCAATTCAGGGTATGAGGAAACAAGGATTGAGTTATACCTTGGTGGGTCAACAAAGAAGGGTAG
AAGGGATTTTTACCGAACGGGATCTCGTCCAATTAATTGCAGAAACGACAAGGGATTTCAAGGAAATTTCACTGC
AAGAAGTAATGACCTCTCCTGTTACAACTCTCCAGTTAAATGAAAAGACAAATATTTTTCGGGTTTTAGAGATGAT
CCGTAACCGTGAGATTCGCCATCTCCCTGTTGTGGATCAAGAGGACAACTTATTGGGGTTGATTGCTCACAATAG
CCTTTGTCGAGCGTTGCAACCCGAAAACCTCTTAAAACTGAAACGAGTGGATGAGGTGATGTCGGAGAATGTTTG
TTGCGCCTTTGGTCAAGCTACCCTCTTGGATATTGCTCGTCAGATGGCGCAGTACAGCGTCAGTTGTATTGTCATT
GTGGATCGATTCCATCAGAGTGATCTGGTTCAACCAATAGGGATTTTAACTGAGCGGGATATGGTGCAGTTTCAG
GTGTCAGGGCTAGATTTTAGCGCGATCGCTGCGGAAACAGTGATGAGTCAGCCCTTACAGTTACTTTCTCCCGAT
CAATCTCTCTGGGAAGCCAAAGTCAAAATGGATCAACTGCGCGTGCGACGGTTAGTGGTGGTTGGAGAAAGCGGG
GAGTTAAAGGGAATTGTCACCCAAACCAGTTTATTACAAGCCCTTGATCCCAAAGAAATTACAGAGACGATTTCG
GCATTGCAAACCACCCTCACGGAAAAAACAACAGCACTAGAAGAGGCGAAACAGAAACTGGAAAGACGAGATTAT
TTTTATGGGAATGTGGTGCGAAACTGGTTTGAAGGGCTGATTGCACTGCTAGATCAAGAGGGTCGTTTTTTGTTG
GTAGAAGGGGCGGGTTTAAATACAAATAAACTGTCTCAGCAAGACATAGAAGGGAAATTCTTATCAGAAATTTTTT
CGGATGACCCTAACAAAAGTCTTCTTGCTTGTCACCGAAAAGCCTTACAAGGAGAAAATTGCACGGTTGAGTTTG
AATGGTTTGGTCGGGTTTATTTAACTAATTTCGAGCCGTTTTACGATCCTCGGACTCAAAATTTAGCGGGAGTTAC

CCTAGTTGCCAATGATATTACAGCGCGTCGCCTAGCAGAAAAAGCTCGTACCGAAAGTGAATCCTTACTCCATTC
TTTCTATCACCAAAATCAGATGAGGATGGGAGTGGTAGAAATTTTACCCAACGATATTCGTCATCTTTCTGATAAT
GCTGCCACAGCAAACTTTTTTGGGCGGTCTCCAGAAACAATGCAAGGAAAAACGGCTCGGGAATTGGGCATTCCT
GAAGCAGCAATTCAAAGCTGGTTAGGGGCTTATCAGCAATGTTTGCAGGAAGAAAAACCCGTTACATTTGATTAT
TATCATCAGTCTCAACAGCTATGGCTGACAGTAACCGTTTCTCCCCTCACCTCACAAGTCGGGAATTTTCCACGGT
GTTCTTACCTTGTTAAAGATATTACTCCTCGTAAACAAGCTGAGTTCGCTCTGCAAGAAAAAACAGCAACCCTTAA
ACATTTTAGTGAGAGTCTGAAAGCACTTCATCAACTCAGTACCCAAGATTATGATGATTTTACGACGTTAGCGAGA
GAGTATCTAGAAGTGGGTTGCCAAATTTTTGGGCTATCGACGGGGATTATCAGCGAAGTGACAGGCTCATCTTAT
CAAGTGTTAGCGATCCATTCCGATTTAGACGGATTGGAAGTAGGGTTAAAGTTTGAGTTAAAAAATACTTATTGTG
CAGAAGTGATCCGCACTCAGAAAACTGTTACTTATCAAAATGTCGGGGCTGATCCTAAACTATCCCAGCATCCTG
TTTATCAGAATTTACACCTTGAAAGTTACATTGGCACTCCGATTTTTGTCGAAAATGAAATTTATGGAACGCTGAA
TTTTTCCGCTACAATCATTCGGGAACAGGGCTTTCAAAATCATGAGATTGAAATTATGGAGTTGATGGCTCATGAC
TTAGGAAAATTAATTACCGCCAGTCGTGCAGAAGAGAAACGTCAACAAGCAGAAGCAGCCTTAAAAGAACAATTG
CAACGGTCGCAACTCCTCAAAAGTATTATTAATGAAATCCGTTCTAAGCTAGATTTTAATGAACTGTGTCAAACAA
CGGCTCGGAAATTGGGGCAAACGTTACAGGTCGATCGCTGCTTGATTCATACTTATCTTCCCGATACAACCCCTC
CGCAAGTGCCATTTGTTGCTGAGTATCTTTCGGAAAGTTGTTTTTCGATTCAACATTTGATCATACCAGTAGAAGG
GAATCCTCATATAAAAGCTCTTTTAAGGCGCGATCGCGCGATTTCTTCTCCTGATGTTTATTCCGATCCCCTACTA
GCCCAGCCGATCTGCCGAGAAGTTAACTTAAAATCCATGCTAGCCATCCGCACCTCTTATCAAGGCTTAGCCAAC
GGCATTATTGGTTTACATCAATGTGATTACTATCGAGAATGGACAGAAGAAGAAGTTAAATTATTGGAAGATGTTG
CGGAACAAGTGGAGTCGCGATCGCGCAAGCCAAACTTTTAGAAGCGAAAAACCGCCAGAATGAAGCCCTCGAAGC
AGCAACCGCCCGTGCTGAAGCAGCCAACCAAGCCAAAAGTGACTTTCTCGCCACTATGAGTCACGAAATCCGCAC
GCCGATGAATGCCATTATTGGGATGAGCGATCTCCTGTTAGACACGCCCCTGAGTGAAGAACAACTCGACTTTGC
CCAAACCATTCGCAGTAGTGGCAAGACACTACTCACCATTATTAACGATATTCTCGATTTTTCCAAAATAGAGTCG
GGAAAGTTAGAACTGGAACAACAAGACTTCACTTTATACACTTGTGTGGAAAATGCAATAGACCTAGTGAGCCAG
CAAGCAGCACAAAAAGATTTAGAACTGGCTTATTGGCTTGATCCTAATCTTCCCCAGTTAATGACAGGGGATGAA
ACGCGGTTACAGCAGATTTTGACCAATCTTTTGAGTAATGCGGTTAAATTTACCGAGCAAGGAGAGATTCTGCTG
CTGGTGACTCAACAAACCCTTGAACATATTCAGTTTTGTGTCTCTGATACGGGAGTGGGGATTCCTCCAGAAAAA
ATGGATCAACTATTTCAATCGTTTAGCCAACTCGATTCCTCGCGATCGCGCCGTGCAGAAGGAACAGGCTTAGGG
CTTGCCATCAGTAAACGTCTCTGTAACCTGATGGGGGGTCAAATGTGGGCAATGAGCCAAGGAAAAGTTGCGGGT
AATCCCCTCCCCGCTTGGGAAGCACACCAAAAGTTAATGTCTAATCTAAAACCAAGCTCTGGCTCTAGCTTCTATT
TTACCCTTCCCATGCCTGAAGCAACCTCTTCTGCAATCTCTCAAGTTTTACAAGGAAAGCGCGTTCTCATTGTCGA
AGAATCGCACCTCAATTGTAGTGTCCTTTCCGTGGGGATGAGTAGTTGGGGGATGGAATCGAATGCAGTCACTTC

CACTGCTGCTGCTTTTACCTTAACTGAACAAGGAGAAGCCTTCGATTGTGCCATTATTAGCCTCAACCGCGAACC
CACTGCACAATTAGACCTGATCGAAACTTTAATCACATCTGAGGAATATCAAACACTGCCGTTAATTGTTTTAATT
CCTCTGGGAATGAAGAATCTCTCTCTTCCTAGCACACCAAACATCACTGTCTTGAAACAACCGCCAAAACAATCTC
GGTTGTATGAAACCCTCATCCGTTATTTTACATCTCCCTCTGAGGCAACAGTTTCTTCAGAACACTCTTCTCCTGT
TGCAGCAACATCCTTCTCTAATCTGAAAATTTTGTTAGCCGAAGATAATCCAGTCAACCAAAAAGTTATCCTCAAA
ACCTTAAAACGTTTAGGTTATACCGCCGATGTGGTTGAAAATGGTCGCGCTGCTATTACTGCTTTAGAAACTCAAC
CCTATGATCTAATTTTGATGGACTTGCGGATGCCCGAAATGGACGGGATTACAGCCACTCAAGAAATTCGCGATC
GTTGGACAGGGAAACAACGCCCTCGTATTATTGCCTTGACTGCCGATGTGACCCCAGAAGTGCAAAAACAATGTG
TTGAAGTGGGGATGGATGCCTATTTGAGTAAGCCCGTGATGATAGAGTCACTAACTGCGGTATTACAAGAAAGTG
ATCCCCAACTTACTCCTATTACAGCGTCACCCAAGGAAAGTGTTATTGATACAAATACCTTAGAACAATTGACTTC
TTTGATCGGAGAAGATGATCCTGCATCATTGCTAGAAATTCTTGAAAGTTACTGTGATGATCTACCGAAATTAGTT
GTACAAACCCTTAATGCTGCCCAAACAGGAGACTTAAAAACCTTGAAACGAGCCATTCATACCTTAAAAGGAACA
GGCGCAACCATGGGAGCATTTAAGCTGCGCGATCGTTGCATTACCATTGAAAAACTACTCGCTAAAGATAATCCC
ATCCCCTTGGAGATGATCCAAGCCCTAGAAGAAGACAGTCAGAAAGTCATTCAAGAAATTAACGAAAAGTGCGAA
CAACTCAGAAGTCAACTGCATCATTGA

13. PCC7418_3814 (3642 นิวคลีโอไทด์)

ATGTTTGATATTTTTAACCGTTTTCATGCTTGTCAGAATCAAACAGACCTTTTAGCAGTAGCTGTCGAGGAAGTGC
GAGCCTTTTTCCGCAGCGATCGCGCTCTGGTTTATCAATTTTATCCCAATCATACAGGAGAAATCGTTGCTGATTC
TGCCAGTGAGACTGCAACAGTCATTGATCCTACCACTGGTGAACAATGGCGACAACAGCTAGCAGCGATAAACAC
GCCACAGGTGATTAACTCATGTGAGGAGATCGGTTTCCCGAGTCTGGTGTTTCCGATTCCTATTCAAGGAGAGAT
TTGGGGATTATTGATCATCAAGCAAAATGATCAAGTATCACAAGAGGAGGACATCGAAACCTTAGAACCTATCAT
CAACCAACTCGCGATCGCGCTGCAACAACTTATTACCCAAGAACAACTACAAGCAGAACGACAACAGCGTCAACA
ACTTGAACAAGAATTGCGAACGACGAAAAAACGCCTACAAGAAGCGCAGGGAATTCTCAAATCTCAAGGTGTCAT
CCAGAATCTTACCCAACAGCCAGAAGCAGAAGCAGCAGCAGTTTTAGAGGATCAACAAGCAGAACTCCGTTATGT
ATCGCAACGCTTACAAATAGCCATTCAAGCTGCAGAAATGGGAATCTGGGAGTGGGATTTTGTGAGTGATCGGCT
AATTTGGGATCAACGGATGTATGAAATTTTTGGTGTCGATCCTGATGCGTTTACAGGCACTGTCAAAAGTTGGCA

AGACACCTTACATCCTGAAGATGCTGCTGAAACCATTCATCAAATTGAGCGAGCCATTCAAGGGGAACAAGAATT
TGTCACCGAATTTCGGATTATTCATCCTGACGGATCAATTCGCTGGATCGAAGCCCAAAGTTTATTAGTGCGGAA
CGAGCAAGGAAAACCAGAACGCATCATTGGCTCTAATATTGATATTACTGACTATAAACAAGCCACAGCAGAGCG
TCAAAATTTAATTCAGGAACTTTCAACCTTTAAAGCTGCTCTTGATGAAGCTGCCGTTGTTGCCATTACTGATTCT
CAAGGAGTGATCACTTATGTCAATGATGCCTTCTGTAACTTATCCGGTTATTCCCGCAAAGAACTCATGGGTCAAA
CCGATCACCTCATGAAATCAGATTATCATCCCCCAGAATTTTTCGAGGATTTGTGGGCAACCCTACATAGCGGTG
AAGTCTGGCGTGGAGAAATTTGCAATCGTACCAAACAGGGAGACTTCTATTGGGTTAATAGTACCCTTGTCCCTT
TTTTAGATGAGACTGGACAACCCTTTCAATATTTGGGCATTCACTTTGATATCACTGAACGTAAAGCAGCAGAAAC
TGCCCTTGTAGAATCTCAGCAATTTATTGAAGCGATTCTCGATAGCGTGCCTTTCCCCATCTTTTGGAAAAACCGC
GACTCGGTATTTTTAGGTTGTAATCAGACCTACGCGAATCTCACCCGCCTCCCTTCTCCTGCTGCGGTGGAAGGA
AAGACTGATTTTGATTTTCTGCTTCATACCAGTCAGATTGAGAAAATCCACCAAGACGATCAAGAGGTAATGAGAT
CGGGTCAACCTAAATTAGGAGTGGAACAACACATTATTAATATTGCCCAGCAAGAAACATGGGTTGAAGTCAATC
GCGCCCCGCTCAGAAATAGTCGCAATGAAGTGATTGGCTTAGTAACCACAATCCAGGATATTAGCGAACGTAAAG
CAGCTAACTTGGCGATGAAACGGCAACTTGCTGCCATTGAAGCTGCGGTTGATGGCATCAGTATTTCACAAGGAG
ACACTTATCTTTATTTGAATCAAGCCCATGTCGAGCTATTGGGTTATGAAAGTCAAGAAGAATTGCTCGGTCAGTC
TTGGCGGAGTTTCTACTCTCCAGAGCAAGTCACTTGGTTTGAGCAGGAAGTCTTCCCTACATTGGCGAAAAAGGG
CTTTTGGCAAGGAGAAGCCGTTGCGACTCGTAAAGACGGTTCAACTTTTGACCAAGGGATTTCTTTGACGCTAAC
AGATGAAGGATTAATGATTTGTGTCTGTCAAGATATTACAGAACGAAAACAAACAGAATTCGCCTTGCAAGCTAG
CGAAACTCAATTTCGACGAGTGTTTGAGTCTAATGTGGTCGGGATGATGTTTACTGATTTTAGCGGTCAGATCAC
GGATGCCAATGATCAATTTCTAGACATTATTGGCTATAGCCGAGCCGATTTAGAAGCCGAACGCATTAATTGGGT
AGAGATCACGCCCCCAGAGCATATCGAAGCGGATGAGCGGGCGAAGGAGCAGTTGCAACGCCATGGCGAGATCC
AACCCTTTGAAAAGGAGTACCTGCGTTCAGATGGCAAGCGTGTATCGGTGTTGCTGGGTGTTGCGTTGTTATCGG
AAAAAGATGCTCGTTGTGTTTGCGTCGTGGTCGATATCAGCGATCGCAAAGCAGCAGAAGCAGAATTACAACGCA
CCAATTCCGAACTAGAACGGGCAACTCGCCTTAAAGATGAATTTCTGGCGAACATGAGCCATGAACTGAGAACGC
CCCTCAATGCCATTTTAGGGATGACGGAAGGACTCAAAGAACAAATCTACGGCTCTCTCAATCCAAAACAGATGC
AGTCTTTGGACACGATCGAGCGCAGTGGTTCCCACTTACTCTCTCTGATTAATGACATTCTAGATCTCTCAAAAAT
TGAATCAGGGAAAATGGAACTCGATCGCGCTTCTACTGCAGTGGAACCCTTGTGCCAGTCTGCGTTCGTATTTAT
AAACAACAAGCCTACAAAAAGCAAATCAAACTGGAAACGCAACTGCCTTCTAATCTGCCAAAGTTATGGATTGAT
GAACGGCGCATCCGCCAAGTCTTAATTAATTTACTCACCAATGCTGTCAAATTTACTCCTGAAGGCGGAAAAATTA
CCCTGAGTGTCAACACGAAAAAAGAAACAACCTCTCGCCCTGCTGCTGTGCAGATTGCTGTCAGTGATACTGGAA
TTGGCATTAGACAAGAGAACTTAAATCAGCTATTTCAACCGTTGTGCAAGTGGATAGCACTCTCAATCGAAAATAT
GAAGGAACGGGATTAGGGTTGGCTTTAGTCAAACGGACCGTGGAACTTCACGGAGGAGAAGTCAGTGTCAGCAGT

GAAGTGGGGGTGGGCAGTTGTTTTACCATTGAATTGCCTTATATGATGGGGGCAGCATCTGCTGAAACAACTACT
CCATCGGATTTAGAAATCACCGTCACTGAAGAGCAAACCCCTGCTTTAATTTTGATGGCAGAGGATAATTCAGCC
AATATCCTAACGATGAAAAGCTATCTCGAAGCAAAAGGGTATCGTCTGATTGTCGCTAATAATGGACTGGAAGCA
ATTAACCTTGCGCGATCGCAGCAACCCGATCTGATTTTAATGGATATCCAAATGCCAGATCTCGATGGGCTCGAA
GCGATTCAACAAATTCGGAGTGATGGGAATGAGACTGTGCCGATTATTGCTTTAACAGCTTTAGCCATGGAAAAC
GATCGCGATCGCTGCTTAGAAGCGGGGGCGAATGACTATTTGACGAAACCAGTGCGCCTCAAAGAATTAGTAACC
ACTATTGAAAACTTCTTAAATCGTGACTAG