การศึกษาเปรียบเทียบเรสตริกชันฟิงเกอร์พรินท์ จากดีเอ็นเอของไมโตรคอนเดรียของกระบือปลักและกระบือมูราห์

นางจันทร์เพ็ญ พันธุ์สิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2538

ISBN 974-632-417-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 16131411

A Comparative Study on Mitochondrial DNA Restriction Fingerprints of Swamp and Murrah Buffaloes

Mrs Chanpen Pansin

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Program of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1995

ISBN 974-632-417-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเปรียบเทียบเรสตริกชันฟิงเกอร์พรินท์จากดีเอ็นเอของไมโตรคอนเดรียของกระบือปลักและกระบือมูราห์

โดย นาง จันทร์เพ็ญ พันธุ์สิน

สหสาขา เทคโนโลยีทางชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ มณีวรรณ กมลพัฒนะ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ มณีวรรณ กมลพัฒนะ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร สิทธิประณีต)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

จันทร์เพ็ญ พันธุ์สิน : การศึกษาเปรียบเทียบเรสตริกชันฟิงเกอร์พรินท์จากดีเอ็นเอของไมโตรคอนเดรียของกระบือปลักและกระบือมูราห์ (A COMPATATIVE STUDY ON MITOCHONDRIAL AND RESTRICTION FINGERPRINTS OF SWAMP AND MURRAH BUFFALOES) อ.ที่ปรึกษา : ศ.มณีวรรณ กมลพัฒนะ และ รศ,ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 131 หน้า. ISBN 974-632-417-9

งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์เปรียบเทียบเรสตริกชันฟิงเกอร์พรินท์จากดีเอ็นเอของไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระบือปลักและกระบือมูราห์เพศเมีย โดยใช้ตัวอย่างเลือดจากกระบือปลัก 8 ตัว และจากกระบือมูราห์ 6 ตัว จากการทดลองตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 ชนิด ได้แก่ *Bam*H I, *Eco*R I, *Bgl* I และ *Pst* I ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม บ่มที่ 37°ซ เป็นเวลา 15 ชม. แล้วแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสบน 1 % I.D.Na^{TM} อะกาโรสเจล 1 เปอร์เซนต์ ที่ความต่างศักดิ์คงที่ 5 โวลท์ ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 3 ชม. 30 นาที พบว่า *Bam*H I, *Eco*R I และ *Bgl* I ตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือทั้งสองสายพันธุ์ได้ดี แต่ *Pst* I เป็นเอนไซม์ที่ไม่เหมาะสม เมื่อตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักด้วย *Bam*H I ได้รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกันซึ่งสามารถแบ่งกระบือปลักที่ทดสอบออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 10.5, 5.3, 4.5, 3.0, 2.8 และ 1.4 กิโลเบส กลุ่มที่ 2 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 10,5, 5,3, 4.3, 3,8, 3,0 2,8 และ 1,4 กิโลเบส และกลุ่มที่ 3 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 10,5, 4,5, 3,8, 3,0, 2,8 และ 1,4 กิโลเบส นอกจากนั้น *Bam*H I ยังให้รูปแบบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างกระบือปลักและกระบือมูราห์ ส่วน *Eco*R I สามารถบอกความแตกต่างระหว่างกระบือปลักและกระบือมูราห์ด้วยแถบดีเอ็นเอขนาด 2.1 กิโลเบส ซึ่งปรากฏเด่นชัดเฉพาะในกระบือปลักเท่านั้น สำหรับ *Bgl* I แม้จะตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีแต่ก็ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน

เมื่อวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยการอ่านค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (^{S}D) แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับภายในกลุ่มกระบือปลักด้วยกันหรือระหว่างกระบือปลักกับกระบือมูราห์ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระบือมูราห์ด้วยกันพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน

ภาควิชา สหสาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C326791 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: MITOCHONDRIAL DNA/ RESTRICTION FINGERPRINT/ SWAMP BUFFALO/ MURRAH BUFFALO
CHANPEN PANSIN : A COMPARATIVE STUDY ON MITOCHONDRIAL DNA RESTRICTION FINGERPRINTS OF SWAMP AND MURRAH BUFFALOES. THESIS ADVISOR : PROF. MANEEWAN KAMONPATANA AND ASSO.PROF.DR. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 131 pp. ISBN 974-632-417-9

Restriction fingerprints of white blood cell mitochondrial DNA from Swamp and Murrah buffaloes were comparative analysed. Blood samples were collected from 8 Swamp and 6 Murrah female buffaloes. Mitochondrial DNA was restricted with *Bam*H I, *Eco*R I, *Bgl* I or *Pst* I under suitable conditions which were 6 units of enzyme per 0.5 ug of DNA and incubated at 37°C for 15 hrs. The DNA fragments were separated by electrophoresis on 1.0% I.D.Na^{TM} agarose gel at constant voltage of 5 V/cm. for 3 ½ hrs. *Bam*H I, *Eco*R I and *Bgl* I showed good restriction of the DNA while *Pst* I did not. Digestion of Swamp buffalo mitochondrial DNA with *Bam*H I gave distinct restriction patterns capable to classify tested Swamp buffaloes into 3 groups in which DNA fragments of 10.5, 5.3, 4.5, 3.0, 2.8 and 1.4 kb were found in group 1 while 10.5, 5.3, 4.3, 3.8, 3.0, 2.8 and 1.4 kb were found in group 2 and 10.5, 4.5, 3.8, 3.0, 2.8 and 1.4 kb were found in group 3. Furthermore, *Bam*H I gave distinct DNA restriction patterns comparing between Swamp and Murrah buffaloes. *Eco*R I was capable to distinguish Swamp and Murrah buffaloes by showing prominent band of 2.1 kb of DNA fragment from mitochondrial DNA of swamp buffalo only. Although *Bgl* I was capable to digest the DNA from both species of buffaloes but no prominent band of DNA fragments was observed.

Densitometric analysis of DNA restriction patterns indicated that the similarity coefficient (S_D) values were different when compared among Swamp buffaloes or between Swamp and Murrah buffaloes. But the values were not different when compared among Murrah buffaloes.

ภาควิชา สหสาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี ด้วยความช่วยเหลือและอนุเคราะห์จากอาจารย์และบุคคลากรต่างๆ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์มณีวรรณ กมลพัฒนะ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ ข้อคิดต่างๆ สถานที่อุปกรณ์และสารเคมีในการวิจัยและในความกรุณาของท่าน ในการให้ยืมสัตว์ทดลองบางส่วนที่จัดซื้อด้วยทุนทรัพย์ส่วนตัวของท่าน ตลอดจนจัดหาบุคคลากรผู้ช่วยในการเก็บตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ คุณบุญทวี ดวงทนัน คุณเกรียงศักดิ์ ทาศรีภู และเจ้าหน้าที่โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนมและกระบือปลักทุกท่าน

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ และให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจ แก้ไขข้อบกพร่องของเนื้อหาสาระของวิทยานิพนธ์จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล (อดีต)ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์บางส่วน

ขอขอบคุณ คุณสรรเพชญ โสภณ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการถ่ายภาพ

ขอขอบคุณ คุณวลัยรัตน์ เหล่าสินชัย ที่ให้คำแนะนำเทคนิคต่างๆและให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คุณศิริมา ทองรวย คุณกิติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และการพิมพ์

ขอขอบคุณ คุณมานิต ปลัดสิงห์ เจ้าหน้าที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองกวาง จังหวัดราชบุรีที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการเจาะเลือด และอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับสัตว์ทดลองเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ นักวิจัย และเจ้าหน้าที่ของโครงการการใช้นิวเคลียร์ฯทุกๆท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในทุกๆด้านเป็นอย่างดีจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญรูป..... ฌ
คำย่อ..... ท
บทที่
1. บทนำ..... 1
2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 20
3. ผลการทดลอง..... 37
4. วิจารณ์ผลการทดลอง..... 98
5. สรุปผลและข้อเสนอแนะ..... 113
รายการอ้างอิง..... 116
ภาคผนวก..... 126
ประวัติผู้เขียน..... 131

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงวิธีการเตรียมสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในหลอดปฏิกิริยาของเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I	33
2	แสดงปริมาณไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สกัดแยกได้จาก 100 มล. ของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระบือปลักเบอร์ 1,เบอร์ 2 และเบอร์ 3 เมื่อตกตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (5 โมลาร์)ในอัตราส่วนต่าง ๆกัน	38
3	เปรียบเทียบปริมาณไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สกัดแยกได้จาก 100 มล. ของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระบือปลักและกระบือมูราห์โดยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2.....	39
4	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 นาโนเมตร ของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักและกระบือมูราห์	41
5	แสดงขนาดของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ความเข้มข้น 12.5, 25.0, 50.0,75.0 และ 100.0 ไมโครกรัมต่อ มล. ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม.และ 24 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส	53
6	แสดงขนาดของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ด้วยปริมาณเอนไซม์ *Bam*H I 4,6,8,10 และ 12 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37° ซเป็นเวลา 15 ชม.ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

7 แสดงขนาดของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ของกระบือปลักเบอร์ 1,2,301,302,305,309 และ ด ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยและทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสโดยแปรความต่างศักย์ต่าง ๆ กันที่5,8,10, และ 12 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่งซม. เป็นเวลา 3 ชม. 30 นาที..... 63

8 แสดงขนาดของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักและกระบือมูราห์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส..... 69

9 แสดงขนาดของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักและกระบือมูราห์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Eco*R I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส..... 75

10 ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 1..... 84

11 ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 2 85

12 ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 3 86

13 ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 301..... 87

14 ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 302..... 88

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 305	89
16	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 309	90
17	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ ด	91
18	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์เบอร์ 5	92
19	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์เบอร์ 26	93
20	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์เบอร์ 49	94
21	ค่า S_D ของกระบือปลักและกระบือมูราห์สัมพัทธ์กับไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์เบอร์ 50	95
22	แสดงค่าเฉลี่ยและการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า S_D สัมพัทธ์ของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักแต่ละตัว เมื่อเปรียบเทียบกับกระบือปลักตัวอื่น	96
23	แสดงค่าเฉลี่ยและการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า S_D สัมพัทธ์ของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์แต่ละตัวเมื่อเปรียบเทียบกับกระบือมูราห์ตัวอื่น	97

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

24 แสดงแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่เห็นเด่นชัด (กิโลเบส) ที่ได้จากการตัดไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอและโครโมโซมอลดีเอ็นเอของกระบือปลักด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I จำนวน 3 กลุ่ม. จากกระบือทั้งหมด 8 ตัว 105

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	กระบือปลักไทย.....	4
2	กระบือมูราห์.....	6
3	แสดงคาริโอไทป์ของกระบือปลัก.....	7
4	แสดงคาริโอไทป์ของกระบือมูราห์.....	8
5	แสดงการเตรียมตัวอย่างเลือดที่ต้องการแยกเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยการใช้ Ficoll-paque.....	25
6	แสดงส่วนต่าง ๆของเลือดที่แยกออกจากกันด้วย Ficoll-paque ภายหลังการปั่นที่ความเร็ว 400xg เป็นเวลา 30 นาที.....	26
7	แสดงการเตรียมอะกาโรสเจล	31
8	แสดงเครื่อง UV transilluminator	32
9	แสดงวิธีการถ่ายภาพเจลจากเครื่อง UV transilluminator	34
10	แสดงเครื่องวัดค่าความเข้ม (densitometer)	35
11ก	แถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 1 ชม. 30 นาที โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร.....	43
11ข	แถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 1 ชม. 30 นาที โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร.....	43

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ลอการิทึมของขนาดโมเลกุลของดีเอ็นเอมาตรฐานเฟจแลมป์ดา(λ/*Hin*d III; กิโลเบส)และระยะทางการเคลื่อนที่ (ซม.) โดยการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส	45
13ก	รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 10 หน่วยต่อดีเอ็นเอความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสโดยใช้ BRL Ultrapure อะกาโรสเจล ที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 3 ชม. 30 นาที บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม.....	47
13ข	รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 10 หน่วยต่อดีเอ็นเอความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสโดยใช้ I.D.Na™ อะกาโรสเจล ที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 3 ชม. 30 นาที บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1.0 ไมโครกรัม.....	47

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

14 รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 10 หน่วยต่อดีเอ็นเอความเข้มข้นต่าง ๆกันคือ 12.5,25.0,50.0, 75.0 และ 100.0 ไมโครกรัม/มล. และบ่มที่ 37° ซ ในระยะเวลา 15 และ 24 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาที บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์..... 51

15 รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I ที่ความเข้มข้นต่าง ๆกันคือ 4,6,8,10 และ 12 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม และบ่มที่ 37°ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาที บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 55

16ก รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลทีมีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 59

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

16ข รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ. เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลท์ ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาที บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม 59

16ค รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ. เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 10 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลทีมีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 61

16ง รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ. เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 12 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลทีมีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 61

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

17ก รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลทีมีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 67

17ข รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลทีมีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 67

18 รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักและกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 4 ชม. บนแผ่นอะกาโรสเจลชนิด NuSieve® 3:1 ที่มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 70

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

19ก รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักและกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bgl* I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 71

19ข รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bgl* I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 71

20 รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักและกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Eco*R I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 73

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
21	รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักและกระบือมูราห์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Pst* I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม.....	76
22	ตัวอย่างการวิเคราะห์ รูปแบบการเรียงตัวจากเครื่องวัดความเข้มของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 1, 2 และ 3 ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I	80
23	ตัวอย่างการวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวจากเครื่องวัดความเข้มของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 301,302 และ 305 ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I.....	81
24	ตัวอย่างการวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวจากเครื่องวัดความเข้มของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเบอร์ 309, ด และกระบือมูราห์เบอร์ 5 ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I.....	82
25	ตัวอย่างการวิเคราะห์รูปแบบการเรียงตัวจากเครื่องวัดความเข้มของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือมูราห์เบอร์ 26, 49 และ 50 ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I	83
26	แถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความเข้มข้นอะกาโรสเจล 0.7 เปอร์เซนต์ความต่างศักย์คงที่ 8 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. เป็นเวลานาน 1 ชม. 30 นาที โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร.....	100

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

27ก รูปแบบการเรียงตัวของแถบโครโมโซมอลดีเอ็นเอของกระบือปลัก ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัม และบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 1 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 18 ชม. บนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม.....106

27ข รูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ของกระบือปลักที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bam*H I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและบ่มที่ 37° ซ เป็นเวลา 15 ชม. ภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีสที่ความต่างศักย์คงที่ 5 โวลท์ต่อความยาวเจลหนึ่ง ซม. นาน 3 ชม. 30 นาทีบนแผ่นอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์โดยที่แต่ละช่องมีปริมาณดีเอ็นเอ 1 ไมโครกรัม..... 106

คำย่อ

ซม.	=	เซนติเมตร
ชม.	=	ชั่วโมง
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
oซ	=	องศาเซลเซียส