ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง และผลการวิเคราะห์ลำดับเบส

ตารางผนวก 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

ยีน	GenBank Accession No.	ไพรเมอร์	Product size (bp)
*OSB2*cds	AB021080	OSB2cdsF = 5'- ATG GCA TCT GCT CCT CCA GTT CAG G -3' OSB2cdsR = 5'- TTA CGG CGC CTT CCC CTG TCC -3'	1356
OSB2	AB021080	OB2F = 5'- TGG CAA TAA CGA CGA CTC C-3' OB2R = 5'- CGT ACG GTG TTG ACG AGG TA-3'	333 (cDNA เป็นแม่พิมพ์) 410 (จีโนมิกดีเอ็นเอเป็นแม่พิมพ์)
OSB2	AB021080	OSB2R98S* = 5'- CTC CAA CTG ATG CTC CTC ACA GC -3' OSB2R420S* = 5'- ATT GCT TGC ATA GCT TCT GCC G -3' OSB2F1079S* = 5'- TTG ATG ATC GTG GTA GCG TGG C - 3'	-

หมายเหตุ * คือ ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการหาลำดับเบส

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *OSB2* ที่อยู่ในพลาสมิด p2CA

จากการคัดเลือกโคลนจำนวน 3 โคโลนี สกัดพลาสมิดแล้วส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่าทั้ง 2 โคลนที่คัดเลือกมีชิ้นยีน *OSB2* แทรกอยู่ระหว่าง dual 35s Promoter และ *nos* Terminator โดยชิ้นยีน *OSB2* อยู่ในทิศที่ถูกต้องคือ start codon อยู่ต่อจาก dual 35s Promoter (ภาพผนวก 1) และ stop codon ต่อกับ *nos* Terminator (ภาพผนวก 2) และเนื่องจากยีนรวมกับ dual 35s Promoter และ *nos* Terminator มีขนาดใหญ่ แล้วอ่านลำดับเบสจากไพรเมอร์ M13F (-20) Forward

และ M13R-pUC (-26) reverse เท่านั้น ทำให้ไม่สามารถอ่านลำดับเบสตรงกลางและสร้าง contig ได้ แต่เมื่อนำลำดับเบสไป blast กับฐานข้อมูล GenBank พบว่าประกอบด้วยยีน *OSB2* ต่อกับ dual 35s Promoter และ *nos* Terminator (ภาพผนวก 1 และ 2) ซึ่งถือว่าเป็นโคลนที่ถูกต้องสำหรับการโคลนเข้าสู่พลาสมิด pCABIA1305.1 สำหรับการถ่ายยีนเข้าสู่ข้าว

>p2CA-KNLB2-1300-48_M13F(-20)
GGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCC
TACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCAC
GAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATGGTCCGATTGAGACTTTTCAAC
AAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGC
TCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACC
CACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGG
ATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGACACGCTGACAAGCT
GACTCTAGAGGATCAATTCGATTATGGCATCTGCTCCTCCAGTTCAGGAAGAAGCCCTACAGCCAGGGACGAACCACTTCAGGAGC
CGGCTTGCTGCTGCTGTGAGGAGCATCAGTTGGAGTTACACCATCTTTTGGTCCACTTCAACCAGTCTCCCGGGAGTTCTGACTTG
GAACGATGGATTCTACAACGGCGAGGTAAAGACGAGGAAGATATCCAACTTAGAGGACCTCACCGCTGACCAGCTCGTCCTGCGGA
GAAGCGAGCAACTGAGCGAGCTCTACTACTCTCTCCTGTCCGGCGAGTGCGACCACCGGGCAAGGAAGCCCGTC

ภาพผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำในพลาสมิด p2CA โคลนที่ 48 โดยใช้ไพรเมอร์ M13F_(-20) Forward ในการหาลำดับเบส

หมายเหตุ ลำดับเบสที่เน้นสีเทาเข้มคือ start codon ของยีน *OSB2* ต่อกับ dual 35s Promoter ลำดับเบสที่เน้นสีเทาอ่อนคือ ยีน *OSB2* ลำดับเบสที่ไม่แรเงาคือ dual 35s Promoter

>p2CA-KNLB2-1300-48_M13R-pUC(-26)
CGCGCGATAATTTATCCTAGTTTGCGCGCTATATTTTGTTTTCTATCGCGTATTAAATGTATAATTGCGGGACTCTAATCATAAAA
ACCCATCTCATAAATAACGTCATGCATTACATGTTAATTATTACATGCTTAACGTAATTCAACAGAAATTATATGATAATCATCGC
AAGACCGGCAACAGGATTCAATCTTAAGAAACTTTATTGCCAAATGTTTGAACGATCGGGGAAATTCGAATTCACTAGTGATTTTA
CGGCGCCTTCCCCTGTCCAATTTCGGTTGGGCGCCAACGCGATGGCTCCCTGCTGCTGGACTCCAGCTCTTTCACTCTTTTCTCTA
ACACTTTGAGGTAGGTTATCGTTTCTGCAAGTATGGATGCCTTGTCAACCTTGCGGACGGAGGGGAGTAGTGACTTCAGAATGAGG
AACATCTCGTTGAGCTTCTCTCGGCGCCTTCTCTCTGACATGACATGGCTCTTGATGTTACTTCCTGGAGTCGTCGTTATTGCCAC
GCTACCACGATCATCAATATTACTCATCCATGCGGTGCCGCCGCCTACAGCTTTCTTCAGCAACTTCTGTGACTCTATGCCTGCAG
TCATCGGCACGGCCACCACCTTCTCCGCCGGGTTCGCTCTTTTCCATGACACGAAACACGAGGCGTGAGAGTATGCAACGCCGTCG
ACATCGTTAGCCGCCGCCGCCGCCGCAGCCACCGTCTCCCGTGCCGACGTCGGGACTAGCTGATAAGAACCGAGGTCCAGGTCCAG
CTCCTCGCAGAGGCTGTAGAACTCGTCGGTCTCCATGGTGATCGTTTCGGGGTTGGCGCCGTTGGTCTCGCACTCAGCGACGACGA
CGTCGCCTAGCTCGTCTTCTCCCTGGAGTATGACCATCT

ภาพผนวก 2 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบพันธุ์ข้าวก่ำหนองเต่าคำในพลาสมิด p2CA โคลนที่ 48 โดยใช้ไพรเมอร์ M13F_(-26) Reverse ในการหาลำดับเบส

หมายเหตุ ลำดับเบสที่เน้นสีเทาเข้มคือ stop codon ของยีน *OSB2* ต่อกับ *nos* Terminator ลำดับเบสที่เน้นสีเทาอ่อนคือ ยีน *OSB2* ลำดับเบสที่ไม่แรเงาคือ *nos* Terminator

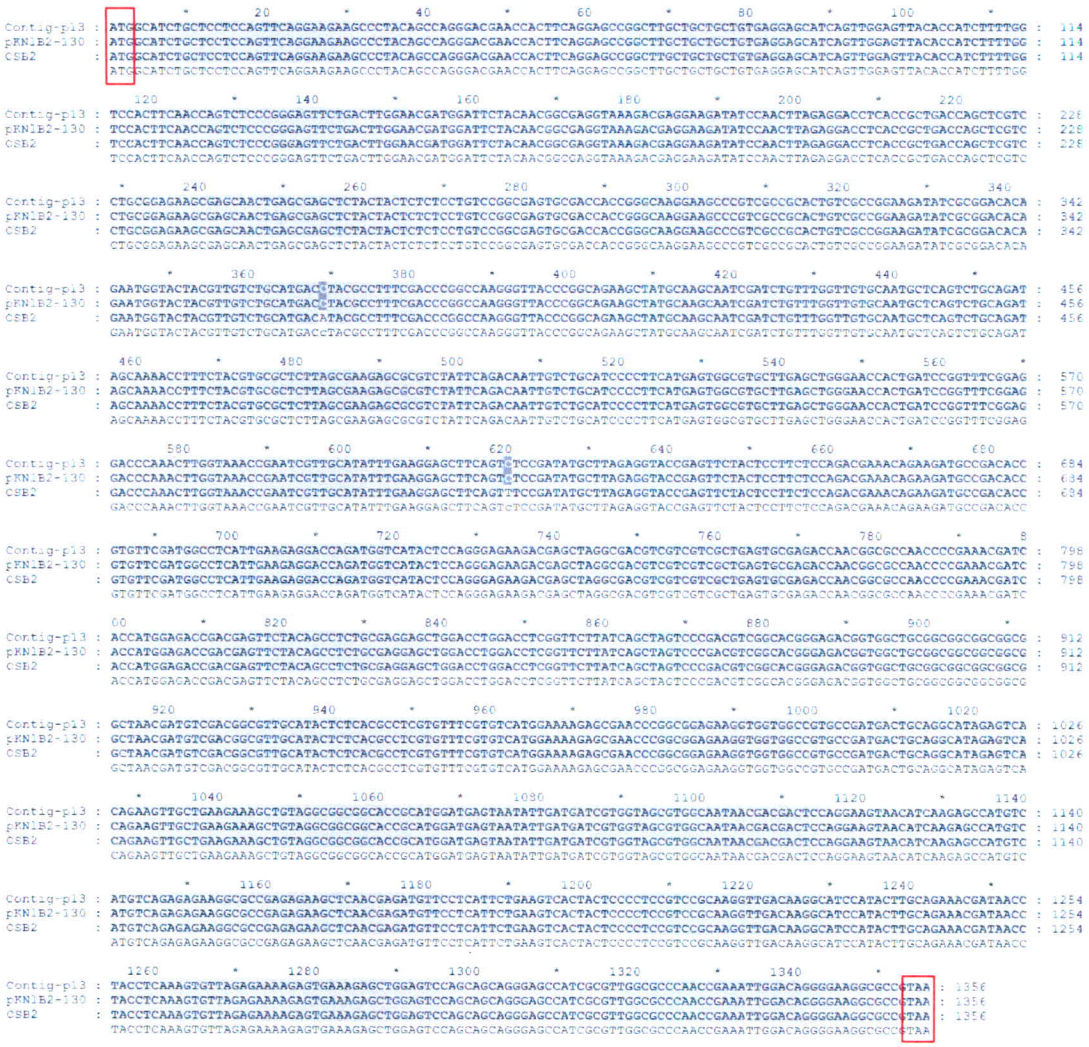
ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *OSB2* ในพลาสมิด pCAMBIA1305.1

เมื่อคัดเลือกโคลนที่ถูกต้องจากพลาสมิด p2CA แล้วทำการโคลนชุดยีน dual 35sP::*OSB2*:: T*nos* เข้าสู่ binary vector คือ pCAMBIA1305.1 แล้วส่งถ่ายเข้าสู่ *E. coli* competent cell จากนั้นคัดเลือกโคลนที่ถูกต้องไปวิเคราะห์ลำดับเบส โดยใช้ไพรเมอร์ OSB2R98S OSB2R420S และ OSB2F1079S ซึ่งครอบคลุมส่วนของ dual 35S Promoter ยีน *OSB2* และ *nos* Terminator จากผลการวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่า ประกอบด้วยชุดยีน dual 35sP::*OSB2*::T*nos* ที่ถูกต้องในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 (ภาพผนวก 3) เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *OSB2* ในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 กับยีน O*SB2* จากข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำที่โคลนได้จาก pGEM-T Easy และยีนจากฐานข้อมูล GenBank พบว่า ยีน *OSB2* ที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 มีลำดับเบสที่ถูกต้อง ซึ่งเหมือนกับลำดับเบสใน pGEM-T Easy (ภาพผนวก 4) ดังนั้น ลำดับเบสของยีนที่โคลนอยู่ใน pCAMBIA1305.1 มีความถูกต้องและสามารถส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่อะโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL1 และ EHA105 สำหรับในการถ่ายยีนต่อไปได้

```
>Contig-p13051_KNLB2_1300_3_48_35S-cds-nos
CCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAA
AGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTT
CCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGA
CCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGACACGCTGACAAGCTGACTCTAGAGGATCAATTCGATTATGGCATC
TGCTCCTCCAGTTCAGGAAGAAGCCCTACAGCCAGGGACGAACCACTTCAGGAGCCGGCTTGCTGCTGCTGTGAGGAGCATCAGTT
GGAGTTACACCATCTTTTGGTCCACTTCAACCAGTCTCCCGGGAGTTCTGACTTGGAACGATGGATTCTACAACGGCGAGGTAAAG
ACGAGGAAGATATCCAACTTAGAGGACCTCACCGCTGACCAGCTCGTCCTGCGGAGAAGCGAGCAACTGAGCGAGCTCTACTACTC
TCTCCTGTCCGGCGAGTGCGACCACCGGGCAAGGAAGCCCGTCGCCGCACTGTCGCCGGAAGATATCGCGGACACAGAATGGTACT
ACGTTGTCTGCATGACCTACGCCTTTCGACCCGGCCAAGGGTTACCCGGCAGAAGCTATGCAAGCAATCGATCTGTTTGGTTGTGC
AATGCTCAGTCTGCAGATAGCAAAACCTTTCTACGTGCGCTCTTAGCGAAGAGCGCGTCTATTCAGACAATTGTCTGCATCCCCTT
CATGAGTGGCGTGCTTGAGCTGGGAACCACTGATCCGGTTTCGGAGGACCCAAACTTGGTAAACCGAATCGTTGCATATTTGAAGG
AGCTTCAGTCTCCGATATGCTTAGAGGTACCGAGTTCTACTCCTTCTCCAGACGAAACAGAAGATGCCGACACCGTGTTCGATGGC
CTCATTGAAGAGGACCAGATGGTCATACTCCAGGGAGAAGACGAGCTAGGCGACGTCGTCGTCGCTGAGTGCGAGACCAACGGCGC
CAACCCCGAAACGATCACCATGGAGACCGACGAGTTCTACAGCCTCTGCGAGGAGCTGGACCTGGACCTCGGTTCTTATCAGCTAG
TCCCGACGTCGGCACGGGAGACGGTGGCTGCGGCGGCGGCGGCGGCTAACGATGTCGACGGCGTTGCATACTCTCACGCCTCGTGT
TTCGTGTCATGGAAAAGAGCGAACCCGGCGGAGAAGGTGGTGGCCGTGCCGATGACTGCAGGCATAGAGTCACAGAAGTTGCTGAA
GAAAGCTGTAGGCGGCGGCACCGCATGGATGAGTAATATTGATGATCGTGGTAGCGTGGCAATAACGACGACTCCAGGAAGTAACA
TCAAGAGCCATGTCATGTCAGAGAGAAGGCGCCGAGAGAAGCTCAACGAGATGTTCCTCATTCTGAAGTCACTACTCCCCTCCGTC
CGCAAGGTTGACAAGGCATCCATACTTGCAGAAACGATAACCTACCTCAAAGTGTTAGAGAAAAGAGTGAAAGAGCTGGAGTCCAG
CAGCAGGGAGCCATCGCGTTGGCGCCCAACCGAAATTGGACAGGGGAAGGCGCCGTAAAATCACTAGTGAATTCGTAATCATGTCA
TAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGGTGC
CTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAAT
GAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGCTAGAGCAGCTTGCCAACATGGTGGAGCACGACACTCTCGTCTACT
CCAAGAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCTATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCGGGAAACCTCCTCGGA
TTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTCATCAAAAGGACA
```

ภาพผนวก 3 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำในพลาสมิด pCAMBIA1305.1

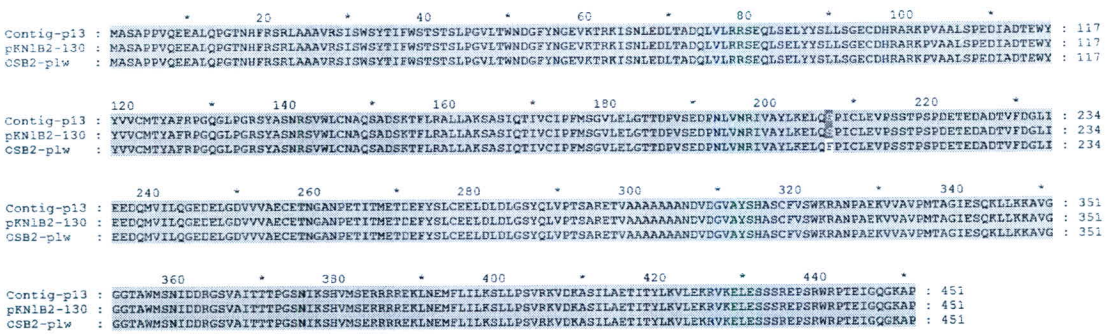
หมายเหตุ ลำดับเบสที่เน้นสีเทาเข้มคือ start codon และ stop codon ของยีน *OSB2* ลำดับเบสที่เน้นสีเทาอ่อนคือ ยีน *OSB2* ลำดับเบสที่ไม่แรเงาส่วนหน้ายีน *OSB2* คือ dual 35s Promoter และด้านหลังยีน คือ *nos* Terminator



ภาพผนวก 4 ผลการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์กำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 กับยีน *OSB2* ที่โคลนได้จากใบข้าวพันธุ์กำหนองเต่าคำในพลาสมิด pGEM-T Easy และยีน *OSB2* จากฐานข้อมูล GenBank (accession no. AB021080)

หมายเหตุ ลำดับเบสที่เน้นสีเทาอ่อนคือ ลำดับเบสที่เหมือนกัน และสีเทาเข้มคือ ลำดับเบสที่ไม่เหมือนกัน ลำดับเบสในกรอบสีแดง คือ start codon และ stop codon โดย Contig-p13 คือ ลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์กำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 ส่วน pKNLB2-1300 คือ ลำดับเบสของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์กำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pGEM-T Easy และ *OSB2* คือยีนจากฐานข้อมูล GenBank

จากการวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนของยีน *OSB2* ที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA 1305.1 เปรียบเทียบกับยีน *OSB2* ที่โคลนได้ก่อนหน้านี้ในพลาสมิด pGEM-T Easy และยีน *OSB2* จากฐานข้อมูล พบว่า ยีนที่โคลนได้ใน pCAMBIA1305.1 มีความเหมือนกับยีน *OSB2* ในพลาสมิด pGEM-T Easy ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแปลรหัสเป็นกรดอะมิโน พบว่า มีความเหมือนกันและไม่มีส่วนใดของกรดอะมิโนหายไป (ภาพผนวก 5) แสดงว่ายีน *OSB2* ในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 มีลำดับเบสและกรดอะมิโนถูกต้อง จึงสามารถนำไปถ่ายเข้าสู่แคลลัสข้าวต่อไป



ภาพผนวก 5 ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA1305.1 กับยีน *OSB2* ที่โคลนได้จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองต่าคำในพลาสมิด pGEM-T Easy และยีน *OSB2* จากฐานข้อมูล GenBank (accession no. BAB64302)

หมายเหตุ ลำดับกรดอะมิโนที่เน้นสีเทาอ่อนคือ ลำดับเบสที่เหมือนกัน ลำดับกรดอะมิโนที่เน้นสีเทาเข้มคือ ลำดับเบสที่ไม่เหมือนกัน โดย Contig-p13 คือ ลำดับกรดอะมิโนของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pCAMBIA 1305.1 ส่วน pKNLB2-1300 คือ ลำดับกรดอะมิโนของยีน *OSB2* จากใบข้าวพันธุ์ก่ำหนองเต่าคำที่โคลนในพลาสมิด pGEM- T Easy และ *OSB2* คือ ลำดับกรดอะมิโนจากฐานข้อมูล GenBank

ภาคผนวก ข
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ *E. coli* และอะโกรแบคทีเรียม

ตารางผนวก 2 อาหารสูตร LB Medium (Luria – Bertani Medium)

องค์ประกอบ	250 ml	500 ml	1000 ml
Tryptone	2.5 g	5 g	10 g
Yeast extract	1.25 g	2.5 g	5 g
NaCl	2.5 g	5 g	10 g
วุ้นแบคทีเรีย	3.75 g	7.5 g	15 g
pH 7			

หมายเหตุ - อาหาร LB (แข็ง) ที่ใช้เลี้ยง *E. coli* หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อ รอให้อาหารอุ่นลงจึงเติมสารปฏิชีวนะ Ampicilin (Stock 100 mg/ml); (Final 100 mg/L) หรือ Kanamycin (Stock 50 mg/ml); (Final 50 mg/L)

- อาหาร LB (แข็ง) ที่ใช้เลี้ยงอะโกรแบคทีเรียม หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อ รอให้อาหารอุ่นลงจึงเติมสารปฏิชีวนะ Kanamycin (Stock 50 mg/ml); (Final 50 mg/L) และ Rifamricin (Stock 50 mg/ml); (Final 50 mg/L)

- LB (เหลว) ที่ใช้เลี้ยงอะโกรแบคทีเรียมก่อนการถ่ายยีนจะไม่เติมวุ้น และเติมสารปฏิชีวนะก่อนนำไปใช้

สูตรอาหารสำหรับการถ่ายยีนเข้าสู่ข้าว

ตารางผนวก 3 อาหารสูตร N6D สำหรับการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัส และเพาะเลี้ยงแคลลัสก่อนการถ่ายยีน

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
N6 stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
N6 vitamin (x1000)	0.5 ml	1 ml
2,4-D (0.2 mg/ml)	5 ml	10 ml
KNO_3	1.415 g	2.830 g
Sucrose	15 g	30 g
Myo-inositol	50 mg	100 mg
Casamino acid	150 mg	300 mg
L proline	1.439 g	2.878 g
pH 5.8		

ตารางผนวก 4 อาหารสูตร 2N6-AS สำหรับปลูกเชื้อและการเพาะเลี้ยงร่วม

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
N6 stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
N6 vitamin (x1000)	0.5 ml	1 ml
2,4-D (0.2 mg/ml)	5 ml	10 ml
Sucrose	15 g	30 g
Glucose	5 g	10 g
KNO_3	1.415 g	2.830 g
Myo-inositol	50 mg	100 mg
Casamino acid	150 mg	300 mg
pH 5.8		
Acetosyringone (AS) (stock 500 µM); (Final 100 µM)	100 µl	200 µl

หมายเหตุ - อาหารเพาะเลี้ยงร่วมหลังจากนึ่งฆ่าเชื้อรอให้อาหารอุ่นลงแล้วเติม Acetosyringone (AS) (Stock 500 µM); (Final 100 µM) จากนั้นเทลงเพลท

- อาหารปลูกเชื้อจะไม่เติมวุ้น และเติม AS ก่อนนำไปใช้

ตารางผนวก 5 อาหารสูตร 2N6 สำหรับล้างเนื้อเยื่อ

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
N6 stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
N6 vitamin (x1000)	0.5 ml	1 ml
2,4-D (0.2 mg/ml)	5 ml	10 ml
Sucrose	15 g	30 g
KNO_3	1.415 g	2.830 g
Myo-inositol	50 mg	100 mg
Casamino acid	150 mg	300 mg
pH 5.8		

หมายเหตุ สำหรับอาหารล้างเนื้อเยื่อจะไม่เติมวุ้น และเติมสารปฏิชีวนะ Timentin (Stock 150 mg/ml); (Final 150 mg/L) ก่อนนำไปใช้

ตารางผนวก 6 อาหาร SM 1 และ SM 2 (สูตรอาหาร N6D) สำหรับคัดเลือกเคลลัสที่ผ่านการถ่ายยีน

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
N6 stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
N6 vitamin (x1000)	0.5 ml	1 ml
2,4-D (0.2 mg/ml)	5 ml	10 ml
KNO_3	1.415 g	2.830 g
Sucrose	15 g	30 g
Myo-inositol	50 mg	100 mg
Casamino acid	150 mg	300 mg
L proline	1.439 g	2.878 g
pH 5.8		

หมายเหตุ - อาหาร SM1 หลังนึ่งฆ่าเชื้อเติมสารปฏิชีวนะ Hygromycin (Stock 50 mg/ml); (Final 15 mg/L) และ Timentin (Stock 150 mg/ml); (Final 150 mg/L)

- อาหาร SM2 หลังนึ่งฆ่าเชื้อเติมสารปฏิชีวนะ Hygromycin (Stock 50 mg/ml); (Final 30 mg/L) และ Timentin (Stock 150 mg/ml); (Final 150 mg/L)

ตารางผนวก 7 อาหารสูตร Regeneration Medium (RM) สำหรับชักนำแคลลัสให้เกิดยอด

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
MS stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
B5 vitamin (x1000)	2.5 ml	5 ml
Sucrose	15 g	30 g
Sorbitol	15 g	30 g
Casamino acid	1 g	2 g
NAA (Stock 100 mg/L); (Final 1 mg/L)	5 ml	10 ml
Kinetin (Stock 2.5 mg/ml); (Final 2.5 mg/L)	500 µl	1000 µl
pH 5.8		

หมายเหตุ อาหาร RM หลังนึ่งฆ่าเชื้อเติมสารปฏิชีวนะ Hygromycin (Stock 50 mg/ml); (Final 30 mg/L) และ Timentin (Stock 150 mg/ml); (Final 150 mg/L)

ตารางผนวก 8 อาหารสูตร MS สำหรับเพาะเลี้ยงต้นข้าวในขวดเพื่อชักนำให้เกิดราก

องค์ประกอบ	500 ml	1 L
MS stock		
Stock1	10 ml	20 ml
Stock2	2.5 ml	5 ml
Stock3	2.5 ml	5 ml
Stock4	2.5 ml	5 ml
B5 vitamin (x1000)	2.5 ml	5 ml
Sucrose	15 g	30 g
pH 5.8		

หมายเหตุ อาหาร MS หลังนึ่งฆ่าเชื้อไม่เติมสารปฏิชีวนะ

ภาคผนวก ค

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ - สกุล นางสาวพูนศรี อินต๊ะ

เกิดเมื่อ 9 กุมภาพันธ์ 2532

ประวัติการศึกษา พ.ศ.2549 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสันทรายวิทยาคม

พ.ศ.2553 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ทุนวิจัยและทุนการศึกษา ทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีการศึกษา 2555 และทุนการศึกษาประเภททุนศิษย์เรียนดี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปี 2555

ผลงานวิจัยเผยแพร่ การนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 18 ประจำปี 2556 (ภาคโปสเตอร์) เรื่อง การโคลนและศึกษาคุณสมบัติของยีน *OSB2* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าว วันที่ 17 กรกฎาคม 2556 ณ โรงแรมแอมบาสเดอร์ สุขุมวิท กรุงเทพมหานคร

การนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมทางวิชาการ International Symposium on Rice Functional Genomics ครั้งที่ 10 ประจำปี 2555 (ภาคโปสเตอร์) เรื่อง Transformation and Expression of a Gene Controlling Anthocyanin Biosynthesis from *Arabidopsis* in Rice. วันที่ 26-29 พฤศจิกายน 2555 ณ โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว จ. เชียงใหม่

การนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมทางวิชาการ ประจำปี 2554 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (ภาคบรรยาย) เรื่อง การถ่ายยีนสร้างแอนโทไซยานินเข้าสู่ยาสูบเพื่อใช้เป็นยีนเครื่องหมายคัดเลือก วันที่ 1 ธันวาคม 2554 ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์

พูนศรี อินต๊ะ วิศิษฎ์ พงศ์บุรพัฒน์ แสงทอง พงษ์เจริญกิต ศรีเมฆ ชาวโพงพาง วราภรณ์ แสงทอง และช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์. 2556. การโคลนและศึกษาคุณสมบัติของยีน *OSB2* ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าว. **Thai Journal of Genetics** 6 (1): 25-29.

รอยพิมพ์ สุขเกษม พัชราภา หมื่นภิรมย์ **พูนศรี อินต๊ะ** แสงทอง พงษ์เจริญกิต ศรีเมฆ ชาวโพงพาง และช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์. 2556. ผลของการขาดไนโตรเจนที่มีต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในต้นยาสูบที่มียีน *pap1* รายงานการประชุมวิชาการ ประจำปี 2556. 3-4 ธันวาคม 2556 ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วารุณี เหิมหาญ **พูนศรี อินต๊ะ** วราภรณ์ แสงทอง แสงทอง พงษ์เจริญกิต นลินี รุ่งเรืองศรี และช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์. 2554. การถ่ายยีนและการแสดงออกของยีนสร้างแอนไซม์เอดีพี-กลูโคลสไพโรฟอสฟอริเลสในเมล็ดข้าว. รายงานการประชุมทางวิชาการประจำปี 2554. 1-2 ธันวาคม 2554. ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้