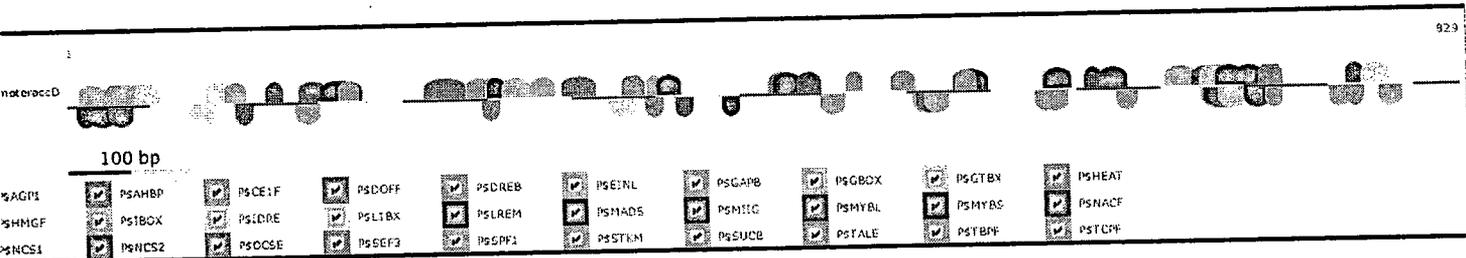


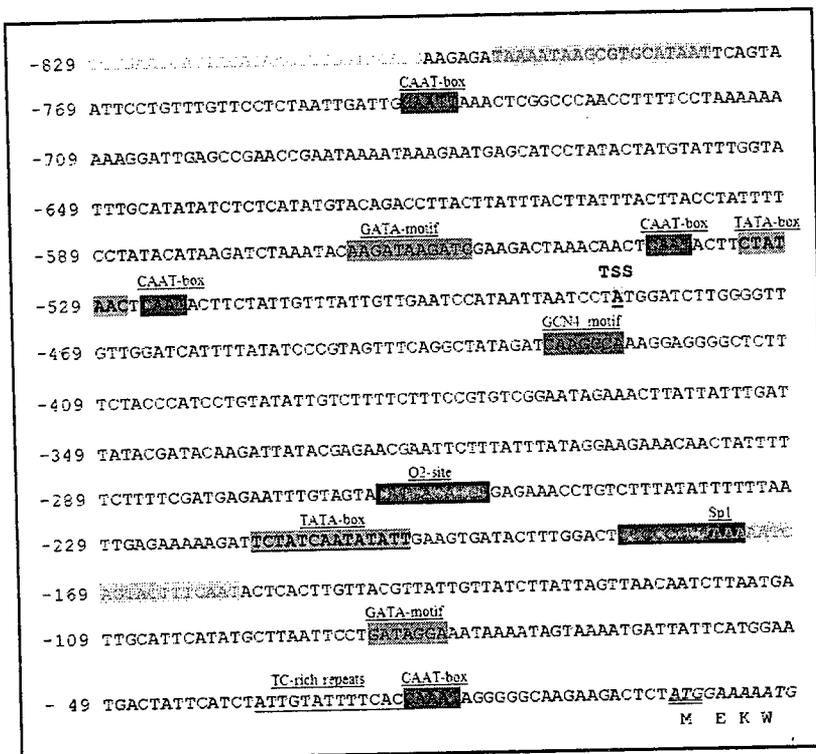
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการโคลนยีนและศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของโปรโมเตอร์

เพื่อนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์แบบแผนดีเอ็นเอ ด้วยโปรแกรมทางชีวสารสนเทศเพื่อหาตำแหน่งอนุรักษ์ของโปรโมเตอร์ *accD* ซึ่งผลการวิเคราะห์ ลำดับลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า โปรโมเตอร์ *accD* ที่ได้ในขณะนี้มีขนาด 825 นิวคลีโอไทด์ เมื่อนำไป วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MatInspector พบว่าสามารถพบส่วนที่สำคัญของโปรโมเตอร์ แสดงผลดัง รูปที่ 6 และตารางที่ 1 และสามารถสรุปตำแหน่งสำคัญแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 6 แสดงแผนผังตำแหน่งบริเวณจับจำเพาะของโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *accD* ใน ปาล์มน้ำมันโดยละเอียดของตำแหน่งต่างสรุปได้ดังตารางที่ 1



รูปที่ 7 แสดงตำแหน่งบริเวณจับจำเพาะของโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *accD* ในปาล์ม น้ำมันจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MatInspector (Genomatix), PromoterScan และ AliBaba2.1 แสดงตำแหน่ง TSS (transcription start site)

ตารางที่ 1 ตำแหน่งบริเวณจับจำเพาะของโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *accD* ในปาล์ม
 น้ำมันจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MatInspector

Family	Further Family Information	Position	Sequence
P\$IBOX	Plant I-Box sites	8 - 24 (+)	cagtaGATAagctggat
P\$GAPB	GAP-Box (light response elements)	23 - 37(+)	atagATGAagagata
P\$IBOX	Plant I-Box sites	29 - 45(+)	gaagaGATAaataaagc
P\$SUCB	Sucrose box	36 - 54 (+)	taAAATaagcgtgcataat
P\$IDRE	Iron-deficiency response elements	42 - 56 (+)	aaGCGTgcataattc
P\$LDP	Lentiviral Poly A downstream element	63 - 77 (+)	tcCTGTtggttctc
P\$GTBX	GT-box elements	84 - 100 (+)	attgcaaTTAAactcgg
P\$L1BX	L1 box, motif for L1 layer-specific expression	86 - 102 (+)	tgcaatTAAActcgcc
P\$RPOA	Retroviral PolyA signal	87 - 107 (+)	gCAATtaactcggccaacc
P\$TCPF	DNA-binding proteins with the plant specific TCPdomain	96 - 108 (+)	ctcgGCCCaacct
P\$NCS1	Nodulin consensus sequence 1	120 - 130 (+)	aAAAGgattga
P\$DOFF	DNA binding with one finger (DOF)	140 -156 (+)	aataaatAAAGaatga
P\$RPOA	Retroviral PolyA signal	142 - 162 (+)	taaAATAaagatgagcatcc
P\$MYBS	MYB proteins with single DNA binding repeat	153 - 169 (+)	atgagcATCCtatacta
P\$MADS	MADS box proteins	157 - 177 (+)	gcaTCCtatactatgtattg
P\$SPF1	Sweet potato DNA-binding factor with two WRKY domains	63 - 175 (+)	taTACTatgtatt
P\$OCSE	Enhancer element first identified in the promoter of the octopine synthase gene (OCS) of the Agrobacterium tumefaciens TDNA	214 - 234 (+)	ttatttacttattACTTacc
P\$TBPF	TATA binding protein factor	239 - 253 (+)	ttccTATAcataaga
P\$AGP1	Plant GATA-type zinc finger protein	249 - 259 (+)	taaGATCtaaa
P\$L1BX	L1 box, motif for L1 layer-specific expression	250 - 266 (+)	aagatcTAAAtacaaga
P\$LREM	Light responsive element motif, not modulated by different light qualities	251 - 261 (+)	agATCTaata
P\$IBOX	Plant I-Box sites	260 - 276 (+)	tacaaGATAagatcgaa
P\$STKM	Storekeeper motif	277 - 291(+)	gacTAAAcactcaa
P\$OCSE	Enhancer element first identified in the promoter of the octopine synthase gene (OCS) of the Agrobacterium tumefaciens TDNA	295 - 315 (+)	ttctataactcaatACTTcta
P\$AHBP	Arabidopsis homeobox protein	331 - 341 (+)	tccataATTaa
P\$EINL	Ethylen insensitive 3 like factors	346 - 354 (+)	TGGAtctt
P\$MIIG	MYB IIIG-type binding sites	352 - 366 (+)	cttggggttgTTGGa
P\$SEF3	Soybean embryofactor 3	419 - 433 (+)	tttctACCCatctcg

ตารางที่ 1 (ต่อ) ตำแหน่งบริเวณจับจำเพาะของโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *accD* ในปาล์ม น้ำมันจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MatInspector

Family	Further Family Information	Position	Sequence
P\$MYBS	MYB proteins with single DNA binding repeat	422 - 438 (+)	ctaccATCCgtatat
O\$LDPS	Lentiviral Poly A downstream element	436 - 450 (+)	taTTGTctttcttt
P\$NCS2	Nodulin consensus se quence 2	436 - 450 (+)	tatgtCTTtcttt
P\$AHBP	Arabidopsis homeobox protein	465 - 475 (+)	aaaCTTAttat
P\$HEAT	Heat shock factors	492 - 506 (+)	agattatacgAGAAc
O\$RPOA	Retroviral PolyA signal	522 - 542 (+)	aggaaGAAcaactattttc
P\$MADS	MADS box proteins	529 - 549 (+)	aacaactATTTtctttcga
P\$SPF1	Sweet potato DNA-binding factor with two WRKYdomains	530 - 542 (+)	ccAACTattttc
P\$MYBS	MYB proteins with single DNA binding repeat	582 - 598 (+)	ctgtctTATAttttt
P\$NCS1	Nodulin consensus sequence 1	606 - 616 (+)	aAAAAgatct
P\$MYBS	MYB proteins with single DNA binding repeat	615 - 631 (+)	ctatcaATATTgaag
P\$SUCB	Sucrose box	654 - 672 (+)	aaAAATcagctacttcaat
P\$OCSE	Enhancer element first identified in the promoter of the octopine synthase gene (OCS) of the Agrobacterium tumefaciens TDNA	670 - 690 (+)	aatactcactgttACGTtat
P\$GTBX	GT-box elements	675 - 691 (+)	tcacttGTTAcgttatt
P\$GBOX	Plant G-box/C-box bZIP proteins	676 - 696 (+)	cactgttACGTtattgttat
P\$GTBX	GT-box elements	680 - 696 (+)	tgttacGTTAttgttat
P\$MYBL	MYB-like proteins	684 - 700 (+)	acgttattGTTAtctta
P\$MYBL	MYB-like proteins	696 - 712 (+)	tcttatTAGTtaacaat
P\$AHBP	Arabidopsis homeobox protein	710 - 720 (+)	aatctTAATga
P\$AHBP	Arabidopsis homeobox protein	714 - 724 (+)	ttaATGAttgc
P\$AHBP	Arabidopsis homeobox protein	762 - 772 (+)	aaactgATTAT
P\$NCS1	Nodulin consensus sequence 1	762 - 772 (+)	aAAATgattat
P\$GTBX	GT-box elements	771 - 787 (+)	attcATGGaatgactat

ซึ่งผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม PromoterScan แสดงตำแหน่ง TSS (transcription start site) ที่ตำแหน่ง -484 และแสดงตำแหน่งบริเวณจับจำเพาะของโปรตีน ที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *accD* ในปาล์ม น้ำมันอื่นๆ เช่น TATA box ในตำแหน่งที่ -528/-532 และเมื่อตรวจสอบด้วยโปรแกรม MatInspector (Genomatix), Plantcare และ AliBaba2.1 พบว่า มีตำแหน่งจับของ cis-regulatory elements ที่เชื่อมโยงกับการควบคุมในระดับเมทาบอลิซึม การกระตุ้นด้วยแสง เช่น GATA-motif, Sp1 และ putative CAAT box ในตำแหน่งที่ -741/-737 นอกจากนี้ยังพบตำแหน่งการ

จับของโปรตีนควบคุม เช่น MYB proteins (orange line), MADS box proteins (blue line), DNA binding with one finger (DOF) (red line), WRKY domains (green line) และ sucrose box motif (yellow bar) รูปที่ 7 และตารางที่ 1

ผลจากการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุล สำหรับตรวจหาตำแหน่ง SNPs ในบริเวณ PCR โปรโมเตอร์ *accD* เป็นชุดแรก

เมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะกับโปรโมเตอร์ *accD* เพื่อทำใช้เป็นส่วนประกอบที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR กับตัวอย่างปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ เทเนอรา ดูรา ฟิลิเฟอรา พบว่า

- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 506 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก A เปลี่ยนเป็น T ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 508 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก A เปลี่ยนเป็น G ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transition
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 527 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก C เปลี่ยนเป็น T ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transition
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 550 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก C เปลี่ยนเป็น G ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 596 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก G เปลี่ยนเป็น A ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transition
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 605 เกิด SNP ในต้น Dura และ Tenera ลำดับเบสจาก A เปลี่ยนเป็น C ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 620 เกิด SNP ในต้น Dura และ Tenera ลำดับเบสจาก T เปลี่ยนเป็น G ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 627 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก G เปลี่ยนเป็น C ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 630 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก T เปลี่ยนเป็น A ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 632 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก C เปลี่ยนเป็น A ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion

- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 640 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก A เปลี่ยนเป็น C ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 644 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก A เปลี่ยนเป็น C ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transversion
- ลำดับนิวคลีโอไทป์ในตำแหน่งที่ 650 เกิด SNP ในต้น Tenera ลำดับเบสจาก G เปลี่ยนเป็น A ซึ่งเป็นเปลี่ยนแปลงลำดับเบสแบบ transition

ผลการศึกษา SNP genotyping ของโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ด้วยไพรมเมอร์ SNP ชุดที่ 2

ผลจากการโคลนบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ปาล์มมันพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดูรา (dura) และ พิลิเฟอรา (pisifera) และหาลำดับนิวคลีโอไทป์ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ในปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์และวิเคราะห์ ตำแหน่งอนุรักษ์ จากไพรมเมอร์ชุดที่ 2 ด้วยชีวสารสนเทศพบว่า มีตำแหน่งของนิวคลีโอไทป์ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ที่แตกต่างกันในตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ transition ในตำแหน่งที่ A506T1 และ G596C พบว่าไม่สามารถใช้ในการ แยกพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดูรา (dura) และ พิลิเฟอรา (pisifera) และเมื่อศึกษา SNP genotyping ของโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ด้วยไพรมเมอร์ SNP ในตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ tranversion ในตำแหน่ง A508G, C527T, A605C, T620G, C623A, A640C และ A644C นั้นยังไม่สามารถคัดเลือกตัวอย่างปาล์มมันพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดูรา (dura) และ พิลิเฟอรา (pisifera) ที่ได้รับมาอย่างมีนัยสำคัญและเมื่อทดสอบตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ได้รับมาพบว่ายังไม่มี ความแน่นอนทาง พันธุกรรมที่คงที่ ดังนั้นจึงทำให้ผลที่ได้ไม่มีความชัดเจนและทางผู้วิจัยได้ทำการ เก็บตัวอย่างใหม่ที่มี ความคงที่ทางพันธุกรรมมากขึ้นเพื่อออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNPs แบบ ลูบจากโปรโมเตอร์และยีน *accD* แบบ LAMP-based SNPs typing เนื่องจากมีการรายงานว่าการ เกิด SNP ในยีน *accD* นั้นส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ β -carboxyltransferase (*accD*) ลดลง ซึ่ง น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

อย่างไรก็ตาม จากผลที่ได้จากตัวอย่างกลุ่มนี้เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ให้ปริมาณผลผลิตสูงทั้งสิ้น คือให้ผลผลิต ≥ 120 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี ทุกตัวอย่างซึ่งมีความน่าสนใจการศึกษาจำนวนชุดของโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ด้วยไพรมเมอร์ ชุดที่ 1 ก่อนการศึกษา SNPs แบบลูบจากโปรโมเตอร์และยีน *accD* ด้วยเทคนิค LAMP-based SNPs typing

ผลการศึกษาจำนวนชุดของโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ด้วยไพรมเมอร์ ชุดที่ 1

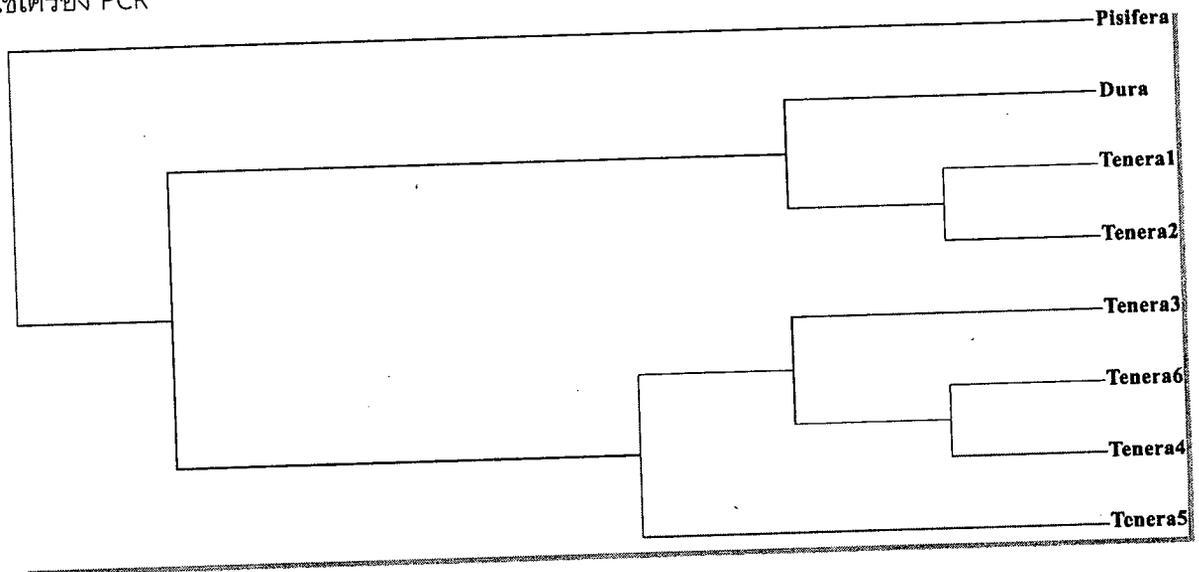
ทำการตรวจสอบ จำนวนชุดของจีโนมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลจากการออกแบบในบริเวณโปรโมเตอร์ *accD* กับตัวอย่างที่ให้ผลผลิตสูงและต่ำจำนวน 16 ตัวอย่างที่มีการบันทึก ผลผลิต

ต่อเนื่องเป็นระยะ 6 ปี พบว่าจำนวนของจีโนมของ โปรโมเตอร์ *accD* มีจำนวนชุดสูงในตัวอย่างที่ให้ผลผลิตน้ำมันสูงคือ อยู่ในช่วง 26.32–43.68 กิโลกรัมต่อตันต่อปี และมีจำนวนชุดของจีโนมของ โปรโมเตอร์ *accD* มีจำนวนชุดต่ำในตัวอย่างที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่ำคือ อยู่ในช่วง 1.98–12.43 กิโลกรัมต่อตันต่อปี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Udy et al. (2012) ที่ทำการศึกษาดรเวจสอบวัด ปริมาณจำนวนชุดของจีโนมและจำนวนชุดจากการแสดงออกของ mRNA ของ photosynthetic protein ใน chloroplast จากต้นข้าวโพด 2 กลุ่มคือกลุ่มที่มีความผิดปกติ (*w2-mum1* และ *w2-mum2*) ซึ่งมีปริมาณของชุดจีโนมที่ผิดปกติให้ผลผลิต และต้นที่ปกติ (wild type) ซึ่งมีปริมาณของชุดจีโนมที่ปกติให้ผลผลิต พบว่าที่มีปริมาณจำนวนชุดของจีโนมของ photosynthetic protein ใน *w2-mum1* และ *w2-mum2* นั้นต่ำกว่าต้นที่ปกติ (wild type) ถึง 30% และ 6% ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าจำนวนชุดจากการแสดงออกของ mRNA ของ photosynthetic protein นั้นมีปริมาณต่ำกว่าใน ต้นที่ปกติ (wild type) ด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของผู้วิจัย ที่พบว่าระดับ mRNA ของ *accD* ในปาล์มน้ำมันสอดคล้องกับปริมาณผลผลิต (Nakkaew, et al., 2008) และผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณจำนวนชุดของจีโนมในบริเวณ โปรโมเตอร์ของ *accD* นั้นส่งผลต่อระดับปริมาณ mRNA ผู้วิจัยได้ทำการรวบรวมข้อมูลเขียนตีพิมพ์ในวารสาร Songklanakarin Journal of Science and Technology และได้รับ accepted เมื่อ 21 กันยายน 2556 ดังเอกสารแนบ 1 และ 2

ออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNPs แบบลูป สำหรับทำ PCR โปรโมเตอร์และยีนของ *accD* แบบ LAMP-based SNPs typing

ผู้วิจัยจึงได้ทำการเก็บตัวอย่าง ใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ *E. guineensis* ต้นแม่ดูรา พ่อพิลีเฟอรา และต้นลูกผสมเทเนอรา ที่มีความแน่นอนทั้งพีโนไทป์และจีโนไทป์ พร้อมทั้งได้ทำการศึกษา ออกแบบ เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อศึกษาตำแหน่ง SNP ในโปรโมเตอร์และยีน *accD* ด้วยเทคนิค LAMP-based SNPs typing โดยจะเป็นเทคนิคที่เมื่อได้ เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อศึกษาตำแหน่ง SNP ที่จำเพาะแล้วจะ สามารถทดสอบได้ง่าย และรวดเร็วมากขึ้น ผลการโคลนบริเวณโปรโมเตอร์ของ และยีน *accD* ปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดูรา (dura) และ พิลีเฟอรา (pisifera) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ในปาล์มน้ำมันทั้ง 3 พันธุ์ และวิเคราะห์ตำแหน่ง อนุรักษ์ด้วยชีวสารสนเทศ พบว่ามีตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *accD* ที่ แตกต่างกันและเมื่อศึกษา ในตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ transversion ตำแหน่ง 650–800 พบว่า สามารถใช้คัดเลือกจำแนกตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดูรา (dura) และ พิลีเฟอรา (pisifera) ได้ ดังผลที่แสดงในรูปที่ 8 จึงใช้ตำแหน่งดังกล่าวออกแบบเครื่องหมายโมเลกุลให้มี ลักษณะที่เป็นลูปไพริเมอร์ SNP จากตำแหน่งของการเกิด transversion แบบ C→A ในบริเวณ ดังกล่าวนั้น แยกปาล์มน้ำมันพันธุ์พิลีเฟอรา (pisifera) ได้ นอกจากนี้พบว่าเกิด SNP transition แบบ T→C และ SNP transversion แบบ G→T และ แบบ A→T ในตำแหน่งของยีน *accD* ที่พบในปาล์ม

น้ำมันพันธุ์พิสิเฟอรา (pisifera) ดังกล่าวข้างต้น ส่งผลให้การแปรหัสโปรตีนเปลี่ยนไปจากเดิม คือ จากกรดอะมิโน “ED” เป็นกรดอะมิโน “LY” ดังรูปที่ 9 ซึ่งพบว่ามี การเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *accD* ซึ่งส่งผลให้การแปรหัสกรดอะมิโนในตำแหน่งดังกล่าวเปลี่ยนไปและสามารถแยกปาล์มพันธุ์พิสิเฟอราได้ ซึ่งทางผู้วิจัยได้ใช้ตำแหน่งดังกล่าวในการออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNPs ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการทดสอบเครื่องหมายดังกล่าวกับปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดุรา (dura) และ พิสิเฟอรา (pisifera) เพื่อพัฒนาวิธีการทดสอบให้รวดเร็วยิ่งขึ้นโดยไม่ต้องใช้เครื่อง PCR



รูปที่ 8 แสดงผลการศึกษา SNPs allele ในลำดับนิวคลีโอไทด์ในโปรโมเตอร์ของยีน *accD* จากตัวอย่าง คัดเลือกจำแนกตัวอย่างปาล์มพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดุรา (dura) และ พิสิเฟอรา (pisifera) ด้วยโปรแกรม PHYLIP ซึ่งพบว่าสามารถแยกปาล์มพันธุ์เทเนอราพิสิเฟอราจากอีกสองสายพันธุ์ออกไปได้

Pisifera	DRIELSIDPGTWDPM DL YMVSM DP IEFHSE GK PYRDRIDSYQRKTGL
Dura and Tenera	DRIELSIDPGTWDPM ED MVSM DP IEFHSE GK PYRDRIDSYQRKTGL

รูปที่ 9 แสดงผลการศึกษา SNPs allele ในลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *accD* จากตัวอย่างปาล์มพันธุ์เทเนอรา (tenera) ดุรา (dura) และ พิสิเฟอรา (pisifera)

เมื่อออกแบบไพรเมอร์โดยนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ด้วยหลักการ LAMP-based SNPs typing และสังเคราะห์ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับโปรโมเตอร์และยีน *accD* เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบ

ในการทำปฏิกิริยา PCR กับตัวอย่างปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอรา ตูรา พิลิเฟอรา โดยอาศัยหลักการพื้นฐานเบื้องต้นที่พัฒนาขึ้นโดย Notomi et al., (2000) ซึ่งคล้ายกับการทำ PCR ได้แก่ เทคนิค Loop-Mediated isothermal amplification (LAMP) อาศัยการทำงานของเอนไซม์ *Bst* DNA polymerase ที่เพิ่มจำนวนดีเอ็นเออย่างมีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะสูงด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อตำแหน่ง SNP ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันตรงบริเวณที่ต้องการตรวจสอบพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNPs แบบลูบ สำหรับทำ PCR โพรโมเตอร์และยีนของ *accD* แบบ LAMP-based SNPs typing นั้นไม่สามารถแยกความแตกต่างปาล์มน้ำมันพันธุ์ *E. guineensis* ต้นแม่ตูรา พ่อฟิลิเฟอราและต้นลูกผสมเทเนอราได้ ทั้งอาจจะเป็นผลมาจากการที่ *accD* นั้นมีหลายชุด (multiple copy gene) จึงอาจจะเป็นไปได้ว่า ด้วยการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุล SNPs แบบลูบของ LAMP-based SNPs typing นั้นอาจจะต้องมีการปรับปรุงเพิ่มเติมต่อไป