

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
อักษรย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	4
บทที่ 3 วัสดุและวิธีการวิจัย	27
บทที่ 4 ผลการวิจัย	56
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	91
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	102
เอกสารอ้างอิง	104
ภาคผนวก	111
ประวัติผู้เขียน	114

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. แสดงปริมาณโปรตีนสะสมที่ได้รับหลังจากผ่านกระบวนการแยกบริสุทธิ์	64
2. แสดง homology ของลำดับกรดอะมิโนของ SP1 จากการตัดด้วย V8 protease กับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสะสมชนิดอื่น	75
3. แสดง homology ของลำดับกรดอะมิโนของ SP2 จากการตัดด้วย V8 protease กับลำดับของกรดอะมิโนของโปรตีนสะสมชนิดอื่น	78
4. แสดงผลการวิเคราะห์ intensity ของ SP1 และ SP2 ที่วัดได้จากอีโมลิฟและ fat body ของตัวหนอน, ดักแด้และตัวเต็มวัย	82
5. แสดงผลการวิเคราะห์ intensity ของ SP1 และ SP2 จากอีโมลิฟของตัวหนอน ที่การเปลี่ยนแปลงระยะต่างๆ ภายหลังจากได้รับ JHA	85

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1. วงชีวิตของหนอนเชื้อไผ่	6
2. แสดงชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกบริสุทธิ์	36
3. แสดง Q-sepharose HP column chromatography	37
4. แสดง Superose 6 column chromatography	37
5. แสดง Mono Q column chromatography	38
6. แสดง C-18 HPLC (high-performance liquid chromatography)	38
7. แสดงอุปกรณ์แยกโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำ blotting	39
8. แสดงเครื่อง protein sequencer ที่ใช้ในการหาลำดับกรดอะมิโน	39
9. แสดงอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการผลิตแอนติบอดี	40
10. แสดงการเปลี่ยนแปลงของหนอนเชื้อไผ่หลังจากได้รับ JHA	40
11. SDS-PAGE แสดงปริมาณ SP1 และ SP2 ที่แยกออกมาจาก Q-sepharose FF ที่ความเข้มข้นของ NaCl ตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.8 M	59
12. แสดงโปรตีนสะสมหลังจากผ่านการแยกชั้นที่ 1 : Q-sepharose HP	60
13. chromatogram แสดง peak และเวลาที่โปรตีนสะสมแยกออกจาก Superose 6	61
14. chromatogram แสดง peak และเวลาที่โปรตีนสะสมแยกออกจาก Mono Q column	62
15. SDS-PAGE แสดงความบริสุทธิ์ของโปรตีนสะสมทั้งสองชนิดหลังจากผ่านการแยกแต่ละชั้น	63
16. calibration curve แสดง native molecular weight ของโปรตีนสะสม โดยเปรียบเทียบ กับโปรตีนมาตรฐาน 6 ชนิด	66
17. chromatogram แสดง peak ที่ได้รับจาก HPLC หลังจากตัดโปรตีนสะสมด้วย BrCN	69
18. chromatogram แสดง peak ที่ได้รับจาก HPLC หลังจากตัดโปรตีนสะสมด้วย trypsin	70
19. การเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ SP1 ที่ได้รับจากการตัดด้วย V8 protease กับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสะสมชนิดอื่น	71
20. การเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของ SP2 ที่ได้รับจากการตัดด้วย V8 protease กับลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนสะสมชนิดอื่น	76

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
21. เปรียบเทียบ SP1 antiserum activity ที่ผลิตได้ เมื่อทำให้เจือจางด้วย PBS ในอัตราส่วนต่างๆ	80
22. แสดงการเปรียบเทียบ antibody activity ของ SP1 และ SP2 ในรูปของ Western blot analysis และตารางแสดงผลการวิเคราะห์ intensity	81
23. SDS-PAGE แสดงแถบของ SP1 และ SP2 ในระยะตัวหนอน, ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย	83
24. Western blot analysis แสดง intensity ของ SP1 และ SP2 ในระยะตัวหนอน, ระยะดักแด้และตัวเต็มวัย	84
25. SDS-PAGE แสดงแถบของ SP1 และ SP2 ภายหลังจากให้ JHA	86
26. Western blot analysis แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับของ SP1 และ SP2 ในฮีโมลิพ ของตัวหนอนที่การเปลี่ยนแปลงระยะต่างๆ หลังจากให้ JHA	87
27. แสดงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของ fat body ของตัวหนอนกลุ่มควบคุมและตัวหนอนที่ incubate ด้วย anti-SP1 rabbit polyclonal antibody ที่กำลังขยาย 100 เท่า	89
28. แสดงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของ fat body ของตัวหนอนกลุ่มควบคุมและตัวหนอนที่ incubate ด้วย anti-SP2 rabbit polyclonal antibody ที่กำลังขยาย 100 เท่า	89
29. แสดงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของ fat body ของดักแด้กลุ่มควบคุมและดักแด้ที่ incubate ด้วย anti-SP1 rabbit polyclonal antibody ที่กำลังขยาย 100 เท่า	90
30. แสดงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของ fat body ของดักแด้กลุ่มควบคุมและดักแด้ที่ incubate ด้วย anti-SP2 rabbit polyclonal antibody ที่กำลังขยาย 100 เท่า	90

อักษรย่อ

BmLSP ; *Bombyx mori* larval serum protein
 CBB ; Coomassie Brilliant Blue
 DAB ; 3,3'-Diaminobenzidine
 DNP ; 2,4-dinitrophenyl
 FDNB; 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene
 FSP ; female-specific protein
 GuHCl ; guanidine hydrochloride
 Hex-1 ; hexamerin-1
 Hex-2 ; hexamerin-2
 Hex 70a ; hexamerin 70a
 Hex 70b ; hexamerin 70b
 Hex 80 ; hexamerin 80
 Hex 110 ; hexamerin 110
 JH ; juvenile hormone
 JHA ; juvenile hormone analogue
 LHP 1 ; larval haemolymph protein 1
 LSP ; larval storage protein
 MHP ; major haemolymph protein
 MLSP ; major larval serum protein
 MSP ; male-specific protein
 MW ; molecular weight
 PITC ; phenylthiocyanate
 PTH ; phenylthiohydantien
 SDS-PAGE ; sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
 SP1 ; storage protein 1
 SP2 ; storage protein 2
 SSP11 ; anti-juvenile hormone compound
 VHDL ; very high density lipoprotein