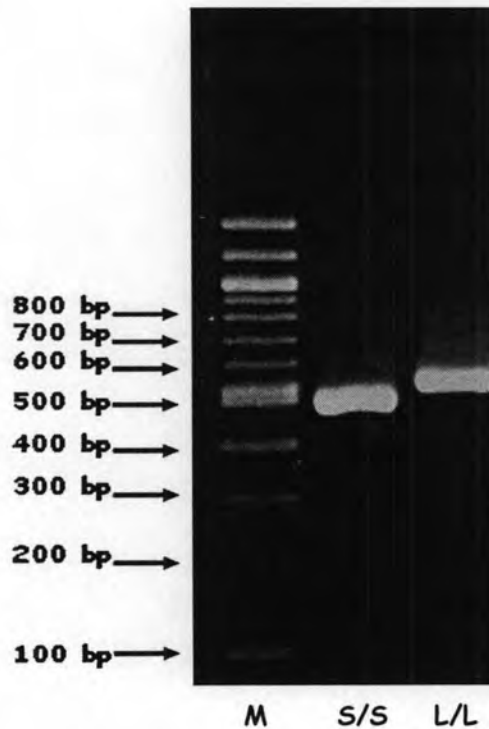


บทที่ 4

ผลการทดลอง

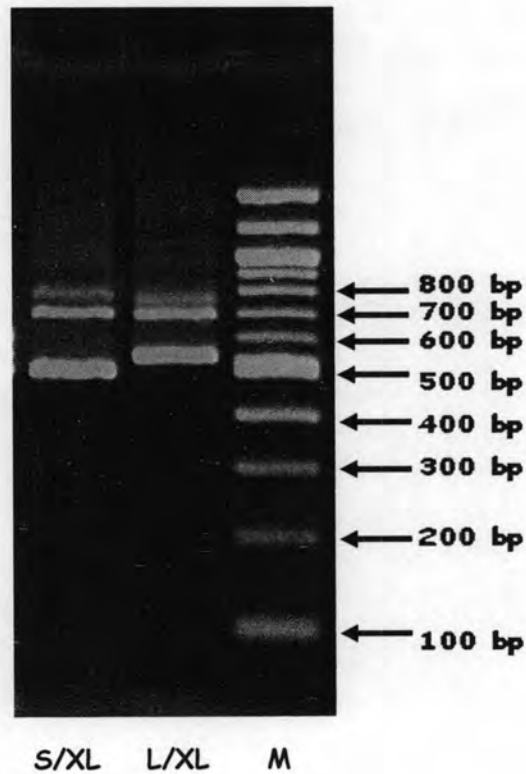
4.1 ตัวอย่าง

ผลการตรวจหาความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) จากดีเอ็นเอของอาสาสมัคร คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการเลือกตัวอย่างของดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายชนิด S อัลลีล (จีโนไทป์ประเภท S/S) และชนิด L อัลลีล (จีโนไทป์ประเภท L/L) มาอย่างละ 1 ราย โดยขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตรวจสอบจะมีขนาดประมาณ 484 คู่เบส และประมาณ 528 คู่เบสตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) บนเจลอกาโรส โดยแถวแรกเป็น DNA marker แสดงขนาดของคู่เบส (bp) กำกับไว้ (M) และแถวถัดไปเป็นลักษณะของจีโนไทป์ประเภท S/S และ L/L ตามลำดับ

ในการทดลองครั้งนี้ นอกจากตัวอย่างของดีเอ็นเอที่มีจีโนไทป์ประเภท S/S และ L/L แล้ว คณะผู้วิจัยยังพบความหลากหลายของ 5-HTTLPR ชนิด XL อัลลีล แบบจีโนไทป์ประเภท S/XL และ L/XL ด้วย ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) บนเจลอกาโรส โดยแถวแรกกับแถวที่ 2 เป็นลักษณะของจีโนไทป์ประเภท S/XL และ L/XL ตามลำดับ และแถวถัดไปเป็น DNA marker แสดงขนาดของคู่เบส (bp) กำกับไว้ (M)

4.2 การศึกษาลำดับเบสของดีเอ็นเอ (DNA Sequencing)

ผลการศึกษาลำดับเบสของดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่มีความหลากหลายของยีน SERT ชนิด S และ L อัลลีลนั้นพบว่า L อัลลีลมีท่อนดีเอ็นเอแทรกให้ยาวกว่าอัลลีล S 42 คู่เบส ดังนี้

5'- CCTTC CAGCA TCCCC CTGCA CCCCC AGCAT CCCCC CTGCA GC -3'

แต่เมื่อนำลำดับเบสของ S อัลลีลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของ L อัลลีลที่อยู่ในฐานข้อมูล (GenBank) กลับพบว่ามีความแตกต่างของลำดับเบสอยู่ 44 คู่เบส ซึ่งลำดับเบสที่แตกต่างกันนี้ เหมือนกันทั้งใน GenBank accession No. AF117826 และ No. X76753 ดังนี้

GenBank accession No. AF117826

-1631 CAGCA TCCCC CCTGC AGCCC CCCCA GCATC TCCCC TGCAC CCCC -1588

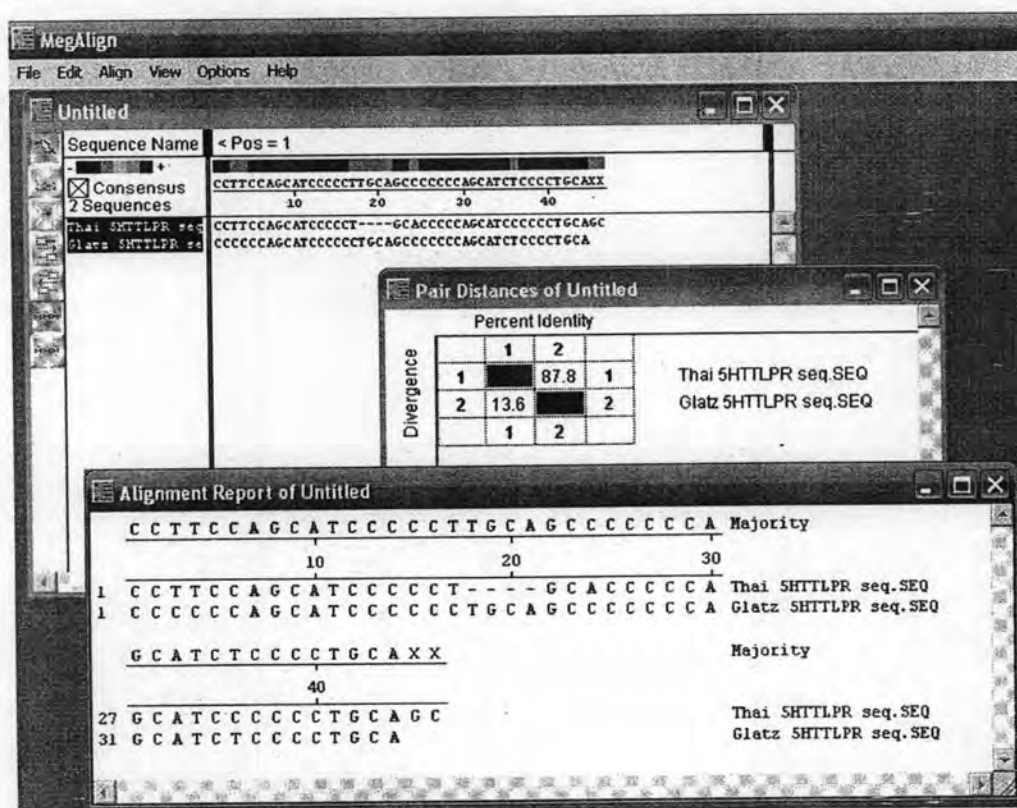
GenBank accession No. X76753

-1633 CAGCA TCCCC CCTGC AGCCC CCCCA GCATC TCCCC TGCAC CCCC -1590

เมื่อนำลำดับเบสซึ่งมีความแตกต่างกันของทั้งสองอัลลีลอยู่ 42 คู่เบสที่ได้จากการศึกษา ครั้งนี้มาเปรียบเทียบกับลำดับเบสจากการศึกษาของ Heils (9) และ Glatz (21) ที่เคยรายงาน ความแตกต่างกันของทั้งสองอัลลีลอยู่ 44 คู่เบส ดังนี้

5'- CCCCC CAGCA TCCCC CCTGC AGCCC CCCCA GCATC TCCCC TGCA -3'

โดยใช้วิธี Jotan Hein Method ในโปรแกรม MegAlign ของบริษัท DNASTAR ประเทศ สหรัฐอเมริกา พบว่ามีความคล้ายกันของลำดับเบสอยู่ประมาณ 87.8 % ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงผลการวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธี Jotan Hein Method ในโปรแกรม MegAlign

สำหรับผลการศึกษา Transcription Factor ในลำดับเบสของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันของ ชนิด S และ L อัลลีลอยู่ 42 คู่เบส ด้วยโปรแกรม TFSEARCH (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>) พบว่ามี Transcription Factor ของมนุษย์ ที่มีจำเพาะสูงกับลำดับเบสดังกล่าวทั้งหมด 2 ตัว ได้แก่ GATA-2 และ MZF1 ดังแสดงในรูปที่ 4.4

File Edit View Favorites Tools Help

Back Forward Stop Home Search Favorites

Address <http://www.cbrc.jp/htbin/nph-tfsearch>

TFSEARCH Search Result

** TFSEARCH ver.1.3 ** (c)1995 Yutaka Akiyama (Kyoto Univ.)

This simple routine searches highly correlated sequence fragments versus TFMATRIX transcription factor binding site profile database by E.Wingender, R.Knueppel, P.Dietze, H.Karas (GBF-Braunschweig).

<Warning> Scoring scheme is so straightforward in this version.
score = 100.0 * ('weighted sum' - min) / (max - min)
The score does not properly reflect statistical significance!

Database: TRANSFAC MATRIX TABLE, Rel.3.3 06-01-1998
Query: untitled (42 bases)
Taxonomy: Vertebrate
Threshold: 85.0 point

TFMATRIX entries with High-scoring:

	entry	score
1 CCTTCCAGCA TCCCCCTGCA CCCCCAGCAT CCCCCCTGCA GC	M00083 MZF1	96.5
<----- <-----	M00075 GATA-1	90.6
<----- <-----	M00075 GATA-1	90.6
<----- <-----	M00076 GATA-2	88.1
<----- <-----	M00076 GATA-2	88.1
<----- <-----	M00083 MZF1	86.1

Total 6 high-scoring sites found.
Max score: 96.5 point, Min score: 86.1 point

รูปที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์ Transcription Factor ด้วยโปรแกรม TFSEARCH

4.3 การคัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการทดลอง

ในการตรวจสอบการแสดงออกในระดับ mRNA ของยีนต่างๆ ได้แก่ ยีน Serotonin transporter (SERT), Estrogen receptor (ER) ชนิด α และ β , Glucocorticoid receptor (GR) ชนิด α และ β , basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) receptor (bFGFR) ชนิด 1 และ 2 กับ Epidermal Growth Factor (EGF) receptor (EGFR) โดยใช้ยีน β -actin หรือยีน glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) เป็นตัวควบคุม ในเซลล์เพาะเลี้ยง HT-29 (Human colon adenocarcinoma cell line) เซลล์ HEp2 (Human Larynx carcinoma cell line) เซลล์ HeLa (Human Cervix carcinoma cell line) เซลล์ HaCaT (Human Keratinocyte cell line) เซลล์ HepG2 (Human hepatocellular liver carcinoma cell line) เซลล์ Jurkat (Human T cell lymphoblast-like cell line) เซลล์ SW480 (Human colon

adenocarcinoma cell line) และเซลล์ L6 (Rat skeletal muscle cell line) เพื่อทำการคัดเลือกเซลล์ที่เหมาะสมในการทดลองครั้งนี้ ผลการศึกษาที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน Serotonin transporter (SERT), Estrogen receptor (ER) ชนิด α , Glucocorticoid receptor (GR) ชนิด α , basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) receptor (bFGFR) ชนิดที่ 1 และ Epidermal Growth Factor (EGF) receptor (EGFR) โดยใช้ยีน β -actin หรือยีน glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) เป็นตัวควบคุม ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดต่างๆ รวมถึงอุณหภูมิ Annealing ที่ใช้ในการตรวจสอบด้วย (เครื่องหมาย \checkmark คือมีการแสดงออกของยีนและ \times คือไม่มีการแสดงออกของยีน)

ยีน เซลล์	β -actin 58°C	GAPDH 58°C	SERT 59-60°C	hER α 58-59°C	hGR α 52°C	hEGFR 59°C	hFGFR1 59°C
HepG2	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
SW480	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
HT-29	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\times	\checkmark	\checkmark
Hep2	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark
HeLa	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\times	\checkmark	\checkmark	\checkmark
HaCaT	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\times	\checkmark	\checkmark	\times
Jurkat	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\checkmark	\times	\checkmark
L6	\times	\times					

อย่างไรก็ตามยังคงไม่ทราบผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน Estrogen receptor (ER) ชนิด β , Glucocorticoid receptor (GR) ชนิด β และ basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) receptor (bFGFR) ชนิดที่ 2 เนื่องจากคณะผู้วิจัยไม่สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนทั้ง 3 ชนิดได้

จากผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ได้ คณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้เซลล์ SW480 และเซลล์ HT-29 ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีแหล่งกำเนิดจากระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เป็นตัวแทนของเซลล์ที่เหมาะสมเป็นตัวแทนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีน SERT (positive) เพื่อใช้ในการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ในการทดลองต่อไป แต่เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งว่าในการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยไม่สามารถที่จะหาตัวแทนของเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน SERT (negative) ได้

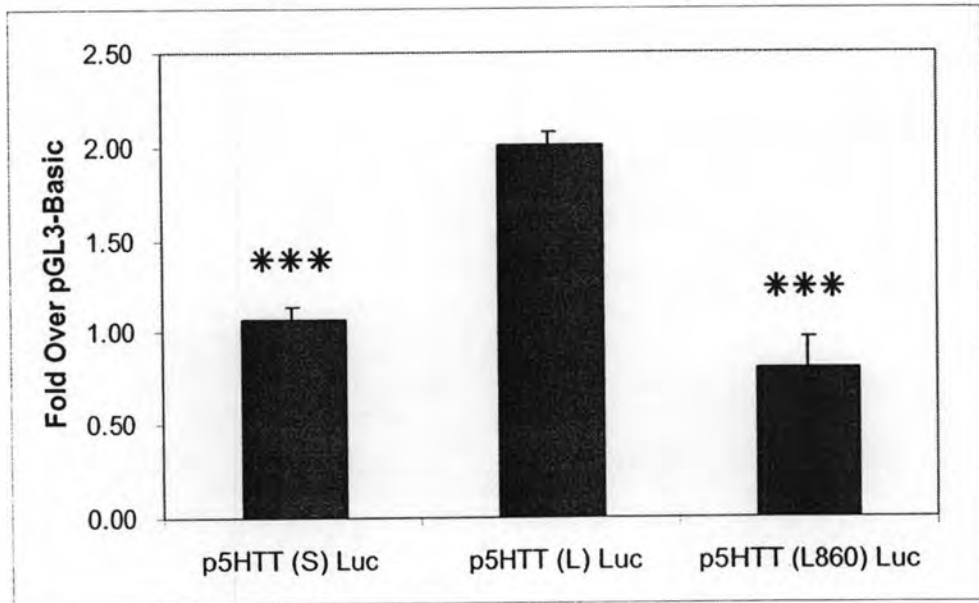
4.4 การศึกษา promoter activity ของยีน SERT

คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L และอัลลีล S รวมถึงเมื่อขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR ไป (L860) โดยการโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอลักษณะเหล่านี้ลงใน plasmid vector ที่ขาดส่วนของ promoter (promoterless luciferase expression vector pGL3-Basic) แล้วตรวจวัดด้วยเทคนิค Reporter gene assay ซึ่งใช้ activity ของยีน luciferase เป็นตัวที่บ่งบอกถึงการแสดงออกของยีน โดยลักษณะของดีเอ็นเอพลาสมิด (luciferase reporter gene constructs) ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงแผนภาพของยีน SERT ในส่วน promoter ที่มีตำแหน่งของเอ็นไซม์ตัดจำเพาะชนิดต่างๆ (12) (A) รวมถึง Transcription Factors (9, 12) (B) และแสดงลักษณะของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ใช้ในการทดลอง (plasmid constructs) ที่ได้จากการโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ promoter ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L (p5HTT (L) Luc) และอัลลีล S (p5HTT (S) Luc) จากตำแหน่ง -1796 ถึง +124 รวมถึงชิ้นส่วนที่ขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) (p5HTT (860) Luc) จากตำแหน่ง -736 ถึง +124 เหล่านี้ ลงใน Plasmid Vector ที่ขาดส่วนของ promoter (promoterless luciferase expression vector pGL3-Basic, Luc+) อ้างอิงจาก GenBank accession No. X76753 (C)

ผลการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L และอัลลีล S รวมถึงเมื่อขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) ในเซลล์ SW480 เป็นดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดง promoter activity ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ promoter ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L (p5HTT (L) Luc) และอัลลีล S (p5HTT (S) Luc) รวมถึงเมื่อขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) (p5HTT (L860) Luc) ในเซลล์ SW480 ซึ่งแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อกับพลาสมิด pGL3-Basic จะถูกถ่ายโอนเข้าสู่เซลล์พร้อมกับพลาสมิดร่วม pRL-CMV โดยค่า firefly luciferase activities ของแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจะถูกเทียบเป็นอัตราส่วนกับ *Renilla* luciferase activities และนำมาคำนวณเป็นจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงค่าเฉลี่ยของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในแต่ละแท่งกราฟ *** $P < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบค่าของ L อัลลีลด้วยสถิติ t-test

โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลีลจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

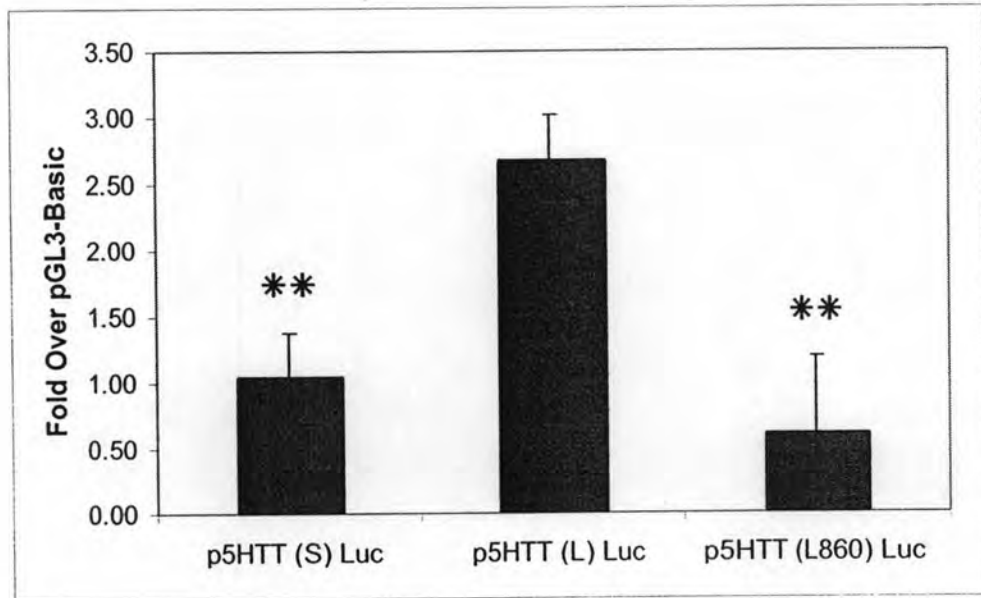
L อัลลีล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 2.0141

S อัลลีล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.0708

L860 (p5HTT (L860) Luc) อัลลีลเท่ากับ 0.8012

และเมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณสถิติ t-test เพื่อเปรียบเทียบกันนั้น พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลและส่วนของ promoter ของยีน SERT ที่ขาดลักษณะของความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.00005$ และ 0.001 ตามลำดับ)

ผลการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L และอัลลีล S รวมถึงเมื่อขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) ในเซลล์ HT-29 เป็นดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดง promoter activity ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ promoter ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L (p5HTT (L) Luc) และอัลลีล S (p5HTT (S) Luc) รวมถึงเมื่อขาดส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) (p5HTT (L860) Luc) ในเซลล์ HT-29 ซึ่งแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อกับพลาสมิด pGL3-Basic จะถูกถ่ายโอนเข้าสู่เซลล์พร้อมกับพลาสมิดรวม pRL-CMV โดยค่า firefly luciferase activities ของแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจะถูกเทียบเป็นอัตราส่วนกับ *Renilla* luciferase activities และนำมาคำนวณเป็นจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงค่าเฉลี่ยของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในแต่ละแท่งกราฟ $**P < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของ L อัลลีลด้วยสถิติ t-test

โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 2.6775

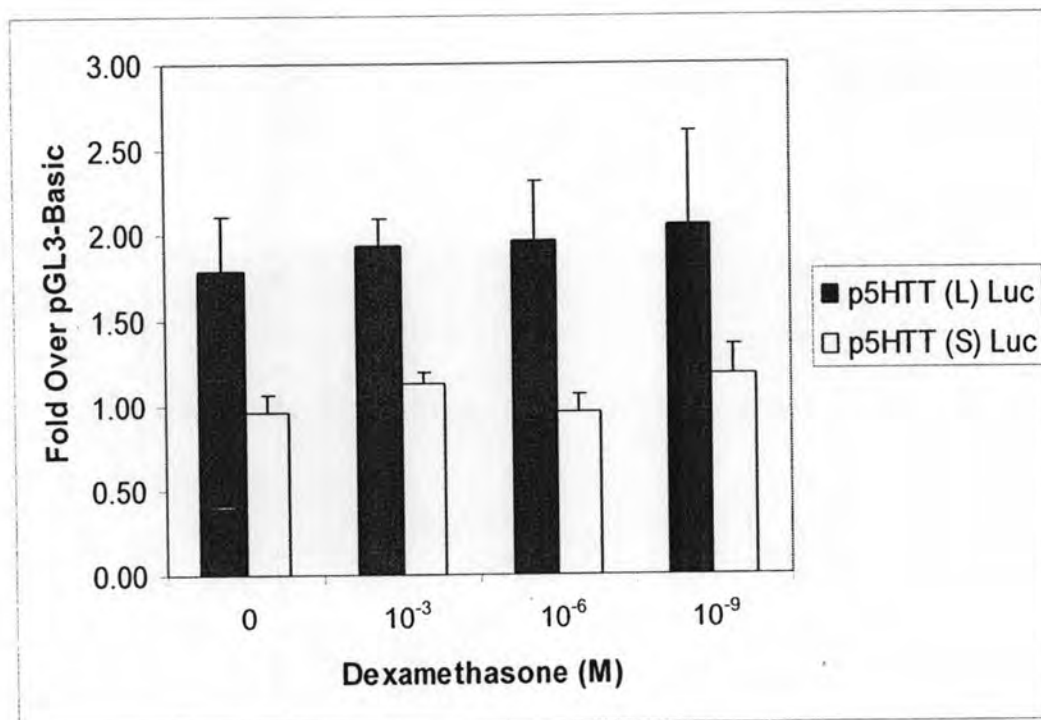
S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.0477

L860 อัลลิล (p5HTT (L860) Luc) เท่ากับ 0.6160

และเมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณสถิติ t-test เพื่อเปรียบเทียบกันนั้น พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control ของ L อัลลิลมากกว่าของ S อัลลิลและส่วนของ promoter ของยีน SERT ที่ขาดลักษณะของความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR (L860) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.004$ และ 0.006 ตามลำดับ)

4.5 การศึกษาผลของ Dexamethasone ต่อ promoter activity ของยีน SERT

การศึกษาผลของ dexamethasone ที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0, 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M ต่อ promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L และอัลลีล S ในเซลล์ SW480 นั้น ผลการศึกษาที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แสดงผลของ dexamethasone ที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0, 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M ต่อ promoter activity ของยีนส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ promoter ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L (p5HTT (L) Luc) และอัลลีล S (p5HTT (S) Luc) ในเซลล์ SW480 ซึ่งแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อกับพลาสมิด pGL3-Basic จะถูกถ่ายโอนเข้าสู่เซลล์พร้อมกับพลาสมิดร่วม pRL-CMV โดยค่า firefly luciferase activities ของแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจะถูกเทียบเป็นอัตราส่วนกับ *Renilla* luciferase activities และนำมาคำนวณเป็นจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงค่าเฉลี่ยของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในแต่ละแท่งกราฟ

โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร dexamethasone ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0 M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.7938

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 0.9616

ค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร dexamethasone ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-3} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.9292

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.1268

ค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร dexamethasone ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-6} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.9602

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 0.9610

และค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร dexamethasone ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-9} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

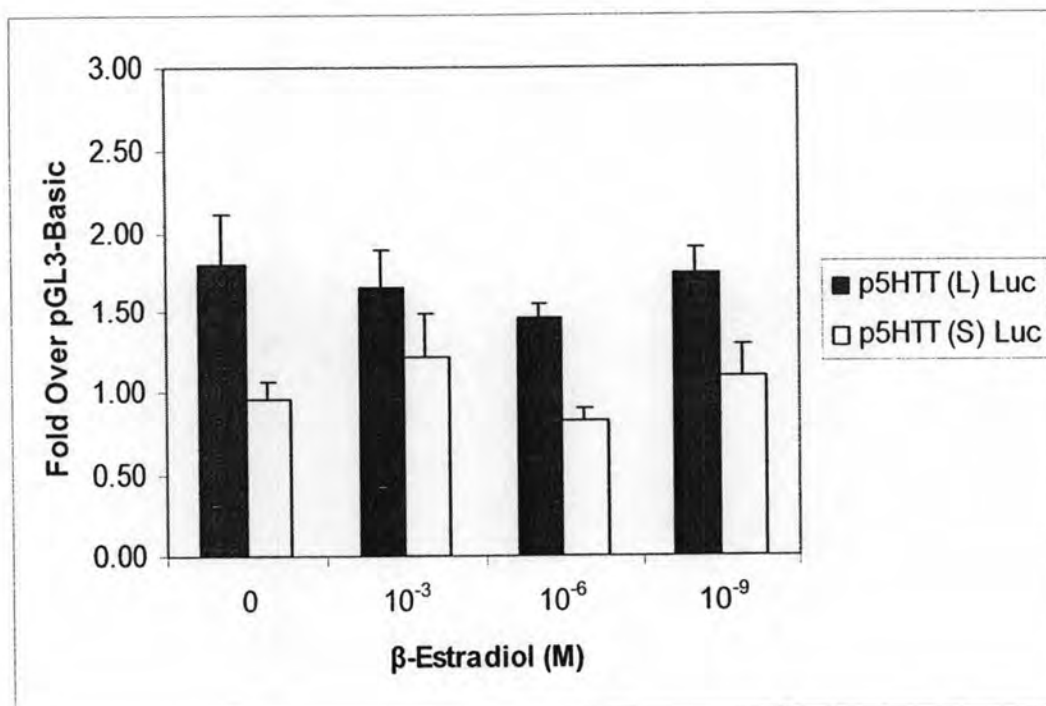
L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 2.0501

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.1842

และเมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณสถิติ t-test เพื่อเปรียบเทียบกันนั้น พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control ของทั้ง L อัลลิลและ S อัลลิล เมื่อทดสอบด้วย dexamethasone ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M นั้นไม่แตกต่างจากการทดสอบที่ความเข้มข้น 0 M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

4.6 การศึกษาผลของ β -Estradiol ต่อ promoter activity ของยีน SERT

การศึกษาผลของ β -estradiol ที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0, 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M ต่อ promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L และอัลลีล S ในเซลล์ SW480 นั้น ผลการศึกษาที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงผลของ β -estradiol ที่ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0, 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M ต่อ promoter activity ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ promoter ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบอัลลีล L (p5HTT (L) Luc) และอัลลีล S (p5HTT (S) Luc) ในเซลล์ SW480 ซึ่งแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อกับพลาสมิด pGL3-Basic จะถูกถ่ายโอนเข้าสู่เซลล์พร้อมกับพลาสมิดร่วม pRL-CMV โดยค่า firefly luciferase activities ของแต่ละชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจะถูกเทียบเป็นอัตราส่วนกับ *Renilla* luciferase activities และนำมาคำนวณเป็นจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) และแสดงค่าเฉลี่ยของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในแต่ละแท่งกราฟ

โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร β -estradiol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0 M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.7938

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 0.9616

ค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร β -estradiol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-3} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.6486

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.2092

ค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร β -estradiol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-6} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.4579

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 0.8231

และค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ที่ได้ของแต่ละอัลลิลเมื่อทดสอบด้วยสาร β -estradiol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-9} M จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (triplicate) เป็นดังนี้

L อัลลิล (p5HTT (L) Luc) เท่ากับ 1.7391

S อัลลิล (p5HTT (S) Luc) เท่ากับ 1.0897

และเมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณสถิติ t-test เพื่อเปรียบเทียบกันนั้น พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control ของทั้ง L อัลลิลและ S อัลลิล เมื่อทดสอบด้วย β -estradiol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-3} , 10^{-6} และ 10^{-9} M นั้นไม่แตกต่างจากการทดสอบที่ความเข้มข้น 0 M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)