

ลักษณะสมบัติและการโคลน cDNA ของโปรตีนหลักในนมผึ้ง  
ของผึ้งโพรง *Apis cerana* ในประเทศไทย



นางดวงพร ศรีสุภาพ

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2813-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21051944

CHARACTERIZATION AND cDNA CLONING OF MAJOR ROYAL JELLY  
PROTEINS OF *Apis cerana* IN THAILAND



Mrs. Duangporn Srisuparbh


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Doctor of Philosophy in Biochemistry  
Department of Biochemistry  
Faculty of Science  
Chulalongkorn University  
Academic year 2002  
ISBN 974-17-2813-1

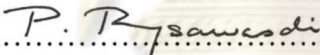
Thesis Title CHARACTORIZATION AND cDNA CLONING OF MAJOR  
ROYAL JELLY PROTEINS OF *Apis cerana* IN THAILAND  
By Mrs. Duangporn Srisuparbh  
Field of study Biochemistry  
Thesis Advisor Associate Professor Siriporn Sittipraneed, Ph.D.  
Thesis Co-advisor Professor Siriwat Wongsiri, Ph.D.  
Sirawut Klinbunga, Ph.D.

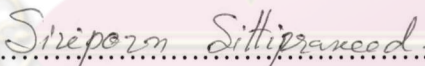
---


Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial  
Fulfillment of the Requirements for the Doctor's Degree

  
..... Dean of Faculty of Science  
(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)

#### THESIS COMMITTEE


  
..... Chairman  
(Associate Professor Piamsook Pongsawasdi, Ph.D.)

  
..... Thesis Advisor  
(Associate Professor Siriporn Sittipraneed, Ph.D.)

  
..... Thesis Co-advisor  
(Professor Siriwat Wongsiri, Ph.D.)

  
..... Thesis Co-advisor  
(Sirawut Klinbunga, Ph.D.)

  
..... Member  
(Assistant Professor Vichien Rimphanitchayakit, Ph.D.)

  
..... Member  
(Assistant Professor Jarunya Narangajavana, Ph.D.)

ดวงพร ศรีสุภาพ : ลักษณะสมบัติและการโคลน cDNA ของโปรตีนหลักในนมผึ้งของผึ้งโพรง *Apis cerana* ในประเทศไทย. (Characterization and cDNA cloning of major royal jelly proteins of *Apis cerana* in Thailand) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ศิริพร สิทธิประณีต, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ศ.ดร. ศิริวัฒน์ วงษ์ศิริ , ดร.ศิริวุดก กลิ่นบุหงา , 181 หน้า.ISBN 974-17-2813-1.

จากข้อมูลลำดับเบสของยีน IrRNA ของไมโทคอนเดรียที่วิเคราะห์ได้หลังเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR พบว่าสามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ได้ง่ายด้วยการตัดของเอนไซม์ *Dra* I การวิเคราะห์ตัวอย่างผึ้งโพรงในประเทศไทยพบว่ามีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ 4 รูปแบบหลังตัดยีน IrRNA ด้วยเอนไซม์ *Dra* I คือ รูปแบบ A และ D พบในกลุ่มตัวอย่างจากภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง ขณะที่รูปแบบ B พบในกลุ่มตัวอย่างจากภาคใต้, เกาะภูเก็ตและเกาะสมุย และรูปแบบ C ซึ่งพบ 47.06 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างจากเกาะสมุยโดยเป็นรูปแบบที่พบเฉพาะในกลุ่มตัวอย่างนี้เท่านั้น จากการวิเคราะห์การกระจายของรูปแบบของแถบดีเอ็นเอด้วย geographic heterogeneity และ  $F_{st}$  statistic พบว่ามีความแตกต่างของกลุ่มประชากรของผึ้งโพรงในประเทศไทย ( $P < 0.0001$ ) และจากการวิเคราะห์ด้วย AMOVA พบว่าผึ้งโพรงสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มประชากรอย่างมีนัยสำคัญของตัวอย่างจากภาคเหนือถึงภาคกลาง (A), ตัวอย่างจากภาคใต้และเกาะภูเก็ต (B) และตัวอย่างจากเกาะสมุย (C)

การผลิตรอยัลเจลลี่โดยวิธีการเพาะผึ้งนางพญาของผึ้งโพรงจากกลุ่มประชากรทางตอนเหนือและทางตอนใต้พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในด้านปริมาณ ( $P > 0.05$ ) จากการทำให้โครมาโตกราฟีบนคอลัมน์ Q-Sepharose และต่อดัวยคอลัมน์ Sephadex G-200 พบว่าสามารถแยกโปรตีนหลักในรอยัลเจลลี่ได้ 3 ชนิดซึ่งเป็นไกลโคโปรตีน โดยโปรตีนหลักชนิดที่ 1 มี 2 รูปแบบคือโมโนเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 50 กิโลดาลตันและโอลิโกเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 300 กิโลดาลตัน มีค่า pI อยู่ในช่วง 5.2-5.7 นอกจากนี้ยังได้โปรตีนหลักชนิดที่ 2 มีน้ำหนักโมเลกุล 55 กิโลดาลตัน มีค่า pI อยู่ในช่วง 7.0-8.2 และโปรตีนหลักชนิดที่ 3 ซึ่งอยู่ในรูปไดเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 115 กิโลดาลตันในสภาวะธรรมชาติและ 80 กิโลดาลตันในสภาวะเสียสภาพ มีค่า pI อยู่ในช่วง 7.4-8.4 สัดส่วนของปริมาณโปรตีนหลักชนิดที่ 1 : ชนิดที่ 2 : ชนิดที่ 3 มีค่าเท่ากับ 7.2 : 2.7 : 1 และเมื่อนำโปรตีนหลักทั้งสามชนิดนี้บ่มที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$  และ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลาตั้งแต่ 1 ถึง 30 วัน พบว่าโปรตีนหลักชนิดที่ 3 มีความเสถียรน้อยกว่าโปรตีนหลักชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2

ได้สร้างห้องสมุดยีนจาก mRNA ที่ได้จากต่อมใต้คอหอย (hypopharyngeal gland) เมื่อศึกษาจากห้องสมุดนี้พบว่ายีนของโปรตีนหลักในรอยัลเจลลี่ 4 ชนิดและยีนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมอื่น ๆ ( $\alpha$ -glucosidase, glucose oxidase and apisimin) และพบว่าลำดับเบสของโปรตีนหลักชนิดที่ 1 ประกอบด้วย 1299 คู่เบสที่สามารถถอดรหัสให้กรดอะมิโน 433 ตัวโดยมีกรดอะมิโนจำเป็น 48.3 เปอร์เซ็นต์ การสร้างชิ้น cDNA ที่สมบูรณ์ของโปรตีนหลักชนิดที่ 3 ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่าลำดับเบสของโปรตีนหลักชนิดที่ 3 ประกอบด้วย 1824 คู่เบสที่สามารถถอดรหัสให้กรดอะมิโน 608 ตัวโดยมีกรดอะมิโนจำเป็น 39.5 เปอร์เซ็นต์ และจากการตรวจสอบสัดส่วนของปริมาณ mRNA ของโปรตีนหลักสามชนิด (AcMRJP1, AcMRJP2 และ AcMRJP3) ด้วยเทคนิค semi-quantitative PCR พบว่าการแสดงออกของโปรตีนหลักชนิดที่ 1 : ชนิดที่ 2 : ชนิดที่ 3 มีค่าเท่ากับ 3.3 : 1.6 : 1 โดยโปรตีนหลักทั้งสามชนิดนี้จะยังไม่มีการแสดงออกในผึ้งที่เพิ่งเกิดภายใน 24 ชั่วโมง และในผึ้งนางพญาจะมีการแสดงออกของโปรตีนทั้งสามชนิดมากกว่าในผึ้งหาอาหาร โดยมีการแสดงออกของโปรตีนหลักชนิดที่ 1, 2 และ 3 มากกว่า 1.8, 2.5 และ 2.0 เท่า ตามลำดับ

ภาควิชา.....ชีวเคมี.....ลายมือชื่อผลิต.....  
สาขาวิชา.....ชีวเคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ปีการศึกษา.....2545.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

# # 4173832023 : MAJOR BIOCHEMISTRY

KEY WORD: ROYAL JELLY / PROTEIN / *Apis cerana*

DUANGPORN SRISUPARBH: CHARACTERIZATION AND cDNA CLONING OF MAJOR ROYAL JELLY PROTEINS OF *Apis cerana* IN THAILAND.

THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SIRIPORN SITTIPRANEED, Ph.D., THESIS COADVISOR: PROF. SIRIWAT WONGSIRI, Ph.D., SIRAWUT KLINBUNGA, Ph.D., 181 pp. ISBN 974-17-2813-1.

The large subunit of the ribosomal (lr) RNA gene of Thai hive bee, *Apis cerana* was PCR-amplified and sequenced. Based on these nucleotide sequences, genetic differentiation analysis of *A. cerana* was simplified to a PCR-RFLP based on *Dra* I. Four haplotypes of digested lrRNA gene were observed. Haplotype A was found in north, north-east and the central region whereas haplotype B was restricted to specimens from peninsular Thailand, Phuket, and Samui Islands. Haplotype C was found in 47.06 % of *A. cerana* originating from Samui Island but was not found in other geographic samples. Geographic heterogeneity analysis and  $F_{ST}$  statistics indicated the existence of population differentiation of *A. cerana* in Thailand ( $P < 0.0001$ ). Analysis of molecular variance (AMOVA) also illustrated significant genetic differences between bees from the north-to-central region (A), peninsular Thailand & Phuket (B) and Samui Island (C) ( $P < 0.0001$ ).

RJ of *A. cerana* was produced from north to central and southern samples using a queen-rearing method. Yields of RJ productions were not significant different among different bee population ( $P > 0.05$ ). Three families of AcMRJPs were chromatographically purified by Q-Sepharose followed by Sephadex G-200 columns. All purified AcMRJPs were glycoproteins. AcMRJP1 exhibited 2 native forms; monomer (50 kDa) and oligomer (300 kDa), with the pI of 5.2-5.7. AcMRJP2 was a 55 kDa protein with the pI of 7.0-8.2 whereas AcMRJP3 natively exhibited a dimeric of 115 kDa and a denatured monomeric form of 80 kDa with the pI of 7.4-8.4. The quantitative ratio of AcMRJP1:AcMRJP2:AcMRJP3 in RJ was 7.2 : 2.7 : 1. Under different stored condition ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 1-30 days), AcMRJP3 was less stable and easier degraded than AcMRJP1 and AcMRJP2.

The cDNA library was established from hypopharyngeal gland mRNA. Four family of AcMRJPs and other important metabolic-related genes ( $\alpha$ -glucosidase, glucose oxidase and apisimin) were identified. The full length AcMRJP1 was deduced and contained a 1299 bp ORF, encoding 433 amino acid residues with 48.3 % essential amino acid. In addition, the complete AcMRJP3 transcript was isolated by RT-PCR. It contained 1824 bp ORF encoding 608 amino acid residues with 39.5 % essential amino acid. Semi-quantitative PCR was successfully developed and verified that the expression level of these respective protein coding genes (AcMRJP1, AcMRJP2 and AcMRJP3) was in a ratio of 3.3 : 1.6 : 1 in hypopharyngeal glands of nurse bees. Expression of these genes was not found in newly emerged bees and AcMRJP1, AcMRJP2 and AcMRJP3 transcripts of nurse bees were 1.8, 2.5 and 2.0 times greater than those of forager bees.

Department....Biochemistry..... Student's signature..... *Duangsorn S.*  
 Field of study...Biochemistry.... Advisor's signature..... *Siriporn Sittipraneed*  
 Academic year .....2002..... Co-advisor's signature..... *Siriwat Wongsiri*  
 Co-advisor's signature..... *P. Klinbunga*

## ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deepest appreciation and gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Siriporn Sittipraneed, and co-advisor, Professor Dr. Siriwat Wongsiri and Dr. Sirawut Klinbunga, for their excellent instruction, guidance, encouragement and support throughout this thesis.

My gratitude is also extended to Associate Professor Dr. Piamsook Pongsawasdi, Assistant Professor Dr. Vichien Rimphanitchayakit and Assistant Professor Dr. Jarunya Narangajavana for serving as the member of my thesis committee and valuable comments.

This thesis was partially supported by the Thai Government Fund for Academic Staff Development Program of Ministry of University Affairs, Ministry of Education and the TRF/BIOTEC special program for BRT No. R-645005.

Sincere thanks are extended to all staff members and friends of the Biochemistry, Biotechnology and Biology Department for their assistance and friendships.

Finally, the greatest indebtedness is expressed to my families (Sihanantavong and Srisuparbh) for their supporting, unlimited love, care, encouragement and understanding.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xv
CHAPTER	
I    INTRODUCTIONS.....	1
II   MATERIALS AND METHODS.....	25
III  RESULTS.....	62
IV  DISCUSSIONS.....	146
V   CONCLUSIONS.....	156
REFERENCES.....	158
APPENDIX.....	165
BIOGRAPHY.....	181

## LIST OF TABLES

Table	Page
1.1	Compositions of fresh RJ of <i>A. mellifera</i> .....9
1.2	Compositions of fresh RJ of <i>A. cerana</i> .....10
1.3	Molecular characterization of AmMRJP cDNAs.....18
1.4	Sampling location of <i>A. cerana</i> colonies used for production of royal jelly used for purification and characterization.....32
2.1	Primer sequences and PCR conditions for quantification of AcMRJPs Expression level in 25 cycles.....58
2.2	Restriction enzymes specifically digested PCR products of AcMRJP1, AcMRJP2 and AcMRJP3 amplified with different a pair of primers.....59
3.1	Restriction fragment size of <i>Dra</i> I digested lrRNA gene from <i>A.cerana</i> in Thailand.....66
3.2	Geographic distribution of <i>Dra</i> I digested lrRNA gene of <i>A. cerana</i> in Thailand.....67
3.3	Nucleotide divergence between six geographic samples of <i>A.cerana</i> in Thailand.....67
3.4	Geographic heterogeneity test based on Monte Carlo simulation (below diagonal) and $F_{st}$ estimate (above diagonal) between six geographic samples <i>A. cerana</i> in Thailand.....68
3.5	AMOVA test and hierarchical F-statistics of <i>A. cerana</i> samples based on 20000 permutations.....68



## LIST OF TABLES (CONTINUED)

Table		Page
3.6	RJ production from <i>A. cerana</i> colonies originating from peninsular Thailand and the north-to central Thailand.....	71
3.7	<i>N</i> -terminal and/or internal peptide amino acid sequences of purified AcMRJPs.....	98
3.8	Ratios of purified AcMRJPs representing from different geographic locations.	100
3.9	Gene homologues of ESTs from hypopharyngeal glands of <i>A. cerana</i> nurse bees.....	105
3.10	Estimated genetic distance among <i>A. cerana</i> and <i>A. mellifera</i> RJ families obtained from nucleotide (above diagonal) and deduce amino acid (below diagonal) sequences.....	121
3.11	A summary of digestion pattern of AcMRJPs amplification products on various restriction enzymes.....	127

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1.1	Diagram showing the organ systems of an adult female honeybee.....5
1.2	Transmission electron microscopy illustrating high number of RER in hypopharyngeal cells of <i>A. mellifera</i> workers.....12
1.3	(a) Genomic structure of MRJP1 gene.....19 (b) binding site map on up stream sequence of MRJP1 gene.....19
1.4	A phylogenic tree of AmMRJPs construction.....22
2.1	Map of Thailand showing sample collection sites of <i>A. cerana</i> .....30
2.2	A workflow for the PART I experiment.....31
2.3	A workflow for the PART II experiment.....34
2.4	A workflow for the PART III and IV experiments.....35
3.1	Nucleotide sequences of the lrRNA gene of <i>A. cerana</i> .....64
3.2	Restriction pattern of amplified lrRNA gene of <i>A. cerana</i> digested with <i>Dra</i> I...65
3.3	A neighbor-joining tree indicating genetic relationships of <i>A. cerana</i> in Thailand.....69
3.4	10 % SDS-PAGE analysis of crude RJ from <i>A. mellifera</i> and <i>A. cerana</i> .....72
3.5	10 % SDS-PAGE analysis of AcMRJPs precipitation under various percentages of saturated ammonium sulfate.....73
3.6	Chromatographic profile of <i>A. cerana</i> crude RJ on DEAE cellulose column.....75

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
3.7 10 % SDS-PAGE analysis of AcMRJPs after purified by DEAE cellulose column chromatography.....	76
3.8 Chromatographic profile of <i>A. cerana</i> crude RJ on Q-Sepharose cloumn.....	79
3.9 10 % SDS-PAGE analysis of AcMRJPs after purified by Q-Sepharose column chromatography.....	80
3.10 (a) Chromatographic profile of Q-Sepharose cloumn purified protein peak A on Sephadex G-200.....	81
(b) Chromatographic profile of Q-Sepharose cloumn purified protein peak B on Sephadex G-200.....	82
(c) Chromatographic profile of Q-Sepharose cloumn purified protein peak C on Sephadex G-200.....	83
3.11 10 % SDS-PAGE analysis of AcMRJPs after purified by Q-Sepharose followed by Sephadex G-200 column chromatography.....	84
3.12 10 % SDS-PAGE analysis illustrating degradation and stability of proteinA1.....	85
3.13 Chromatographic profile of 50-60 % saturated ammonium sulfate of crude RJ on Sephadex G-200 column.....	86
3.14 10 % SDS-PAGE analysis of AcMRJPs after purified by 50-60 % saturated ammonium sulfate followed by Sephadex G-200 column chromatography.....	87
3.15 Calibration curve for estimated of native molecular weight analyzed on Sephadex G-200.....	88
3.16 10 % SDS-PAGE showing identification of purified AcMRJPs as glycoproteins.....	91

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
3.17 Undigested and PNGaseF digested purified AcMRJPs.....	92
3.18 Isoelectrofocusing analysis of purified AcMRJPs using ampholyte pH 3.0-10.0..	93
3.19 Calibration curve for pI estimation on IEF gel.....	94
3.20 Effect of temperature at -20 °C on stability of purified AcMRJPs.....	95
3.21 Effect of temperature at 4 °C on stability of purified AcMRJPs.....	96
3.22 Effect of temperature at 37 °C on stability of purified AcMRJPs.....	97
3.23 The mRNA extracted from hypopharyngeal glands of <i>A. cerana</i> nurse bees....	102
3.24 Size-fractionation of <i>Not</i> I-digested cDNA using gel filtration.....	103
3.25 Colony PCR to determine sizes of insert.....	104
3.26 Nucleotide and deduce amino acid sequences of AcMRJP1.....	107
3.27 Nucleotide and deduce amino acid sequences of <i>A. cerana</i> apisimin.....	108
3.28 Expression of $\alpha$ -glucosidase was investigated by amplification of hypopharyngeal gland mRNA of <i>A. cerana</i> nurse bees and foragers.....	109
3.29 Restriction analysis of recombinant plasmid containing AcMRJP3 insert.....	112
3.30 Nucleotide and deduce amino acid sequences of AcMRJP2.....	113
3.31 Nucleotide and deduce amino acid sequences of AcMRJP3.....	115
3.32 Alignment of nucleotide sequence among AcMRJP families.....	117
3.33 Alignment of deduced amino acid sequence among AcMRJP families.....	120

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
3.34 A bootstrapped tree illustrating relationship of MRJPs of <i>A. cerana</i> and <i>A. mellifera</i> nucleotide sequences.....	122
3.35 bootstrapped tree illustrating relationship of MRJPs of <i>A. cerana</i> and <i>A. mellifera</i> deduced amino acid sequences.....	123
3.36 Restriction analysis of the amplification products from AcMRJP1 (a), AcMRJP2 (b) and AcMRJP3 (c).....	126
3.37 Agarose gel electrophoresis showing an optimization of MgCl <sub>2</sub> and primer concentrations for AcMRJP1.....	128
3.38 Agarose gel electrophoresis showing an optimization of MgCl <sub>2</sub> and primer concentrations for AcMRJP2.....	129
3.39 Agarose gel electrophoresis showing an optimization of MgCl <sub>2</sub> and primer concentrations for AcMRJP3.....	130
3.40 Determination of cycle number for amplification.....	131
3.41 Determination of standard DNA concentration.....	134
3.42 Agarose gel electrophoresis (a,b) and semi Log graph (c) for quantification of AcMRJP1.....	135
3.43 Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP2.....	136
3.44 Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP3.....	137

## LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure		Page
3.45	Total RNA extracted from 20 hypopharyngeal glands of newly emerged bees, nurse bees and foragers.....	138
3.46	Amplification of AcMRJP1, AcMRJP2 and AcMRJP3 of newly emerged bees.....	139
3.47	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP1 of nurse bees.....	140
3.48	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP1 of foragers.....	141
3.49	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP2 of nurse bees.....	142
3.50	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP2 of foragers.....	143
3.51	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP3 of nurse bees.....	144
3.52	Agarose gel electrophoresis (a) and semi Log graph (b) for quantification of AcMRJP3 of foragers.....	145

ศูนย์วิทยุทั่วยุทธศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF ABBREVIATIONS

AcMRJP	= <i>Apis cerana</i> major royal jelly protein
AmMRJP	= <i>Apis mellifera</i> major royal jelly protein
A, T, G, C	= nucleotide containing the bases adenine, thymine, guanine and cytosine, respectively
bp	= base pair
°C	= degree celcius
cm	= centimetre
cDNA	= complementary deoxyribonucleic acid
CO I	= cytochrome c oxidase subunit I
CO II	= cytochrome c oxidase subunit II
DEPC	= diethylpyrocarbonate
DNA	= deoxyribonucleic acid
dNTPs	= deoxyribonucleotide triphosphates ( dATP ,dTTP, dGTP, dCTP)
EDTA	= ethylenediamine tetraacetic acid
HCl	= hydrochloric acid
kb	= kilobase
KCl	= potassium chloride
kDa	= kilodalton
lrRNA	= large subunit ribosomal RNA
MgCl <sub>2</sub>	= magnesium chloride
mg	= milligram
ml	= millilitre
mM	= millimolar
MRJP	= major royal jelly protein
mRNA	= messenger ribonucleic acid
mtDNA	= mitochondrial DNA
ng	= nanogram
PAGE	= polyacrylamide gel electrophoresis
PCR	= polymerase chain reaction
pg	= picogram

**LIST OF ABBREVIATIONS (CONTINUED)**

RFLP	= restriction fragment length polymorphism
SDS	= sodium dodecyl sulfate
sRNA	= small subunit ribosomal RN A
TEMED	= N,N,N', N'-tetramethylethylenediamine
Tris	= tris (hydroxy methyl) aminomethane
μg	= microgram
μl	= microlitre
μM	= micromolar
UV	= ultraviolet
V	= volt
W	= watt



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย