

ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาเพื่อจำแนกระดับของการเกิดการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT ในเมล็ดรุ่น R_3

จากการศึกษาการกระจายของลักษณะ $Km^R : Km^r$ ของเมล็ดที่กำลังงอก ในสารอาหารคัดเลือกถึงแข็ง MS ที่มีคานาไมซินในขนาดความเข้มข้น 100 mg/ml จากเมล็ดรุ่น R_3 ที่ได้จากการทำ selfing ของพืชตัวอย่างรุ่น R_2 ที่กำเนิดมาจากการทำ selfing ของต้นรุ่น R_1 ที่มีลักษณะเริ่มต้นเป็น monogenic heterozygous จำนวน 26 สับโคลน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 และแสดงรูปบางส่วนในรูปที่ 4

ตารางที่ 2 อัตราส่วนจำนวนเมล็ดที่ต้านคานาไมซิน/ไม่ต้านคานาไมซินในสารอาหารคัดเลือก
 กิ่งแห้ง MS ที่มีคานาไมซิน 100 mg/l และผลการจำแนกระดับการเกิดการ
 ยับยั้งการแสดงออกของจีนในเมล็ดที่ได้จากการทำ selfing ของพืชทดลองใน
 ระยะ R_2 ที่กำเนิดมาจากโคลนเดียวกัน

หมายเลข พืชทดลอง	จำนวนต้นที่ต้าน/จำนวนต้นที่ไม่ต้าน ในสารอาหารคัดเลือกที่มี คานาไมซิน 100 mg/l		
	$Km^R : Km^S$	อัตราส่วน	ระดับการเกิดการยับยั้งการ แสดงออกของพืช
1	201 : 10	20.10 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
2	160 : 78	2.05 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
3	51 : 113	0.45 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
4	188 : 35	5.37 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
5	143 : 9	15.89 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
6	141 : 55	2.56 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
7	149 : 58	2.57 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
8	154 : 48	3.2 : 1	แสดงออกปกติ
9	106 : 47	2.25 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
10	0 : 214	0 : 1	ถูกยับยั้งทั้งหมด
11	146 : 25	5.84 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน

ตารางที่ 2 (ต่อ)

หมายเลข พืชทดลอง	จำนวนต้นที่ต้าน/จำนวนต้นที่ไม่ต้าน ในสารอาหารคัดเลือกที่มี คานาไมซิน 100 mg/l		
	$Km^R : Km^S$	อัตราส่วน	ระดับการเกิดการยับยั้งการ แสดงออกของพืช
12	200 : 65	3.08 : 1	แสดงออกปกติ
13	126 : 60	2.10 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
14	161 : 3	53.70 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
15	88 : 82	1.07 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
16	0 : 170	0 : 1	ถูกยับยั้งทั้งหมด
17	23 : 104	0.22 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
18	188 : 32	5.87 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
19	18 : 236	0.08 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
20	156 : 26	6.00 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
21	0 : 157	0 : 1	ถูกยับยั้งทั้งหมด
22	214 : 13	16.46 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
23	240 : 36	6.67 : 1	ถูกยับยั้งบางส่วน
24	204 : 0	1 : 0	แสดงออกปกติ
25	0 : 188	0 : 1	ถูกยับยั้งทั้งหมด
26	193 : 0	1 : 0	แสดงออกปกติ

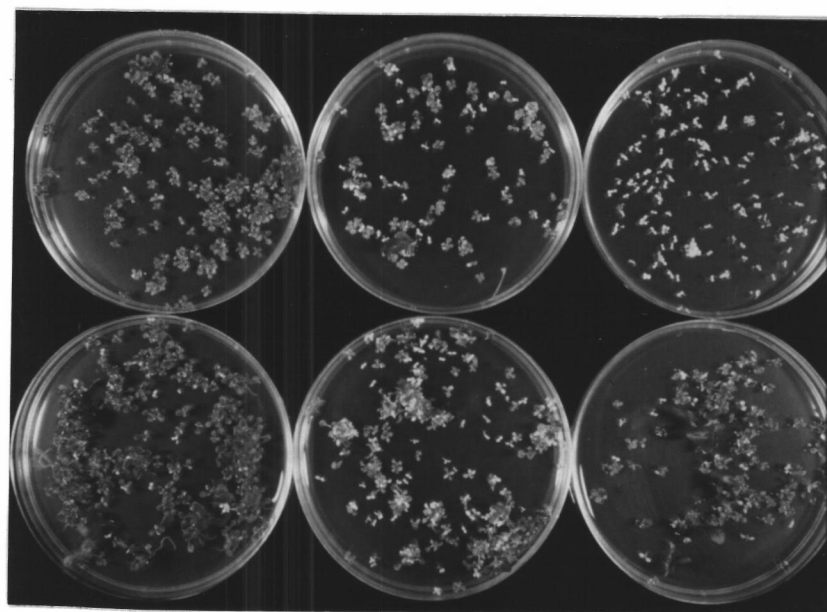
หมายเหตุ

- การกระจายของลักษณะ $Km^R : Km^S$ ในอัตราส่วน 1:0 (รูปที่ 5) หรือ 3:1 จัดเป็นการกระจายตามปกติ (ได้จากการทำ selfing ของต้นรุ่น R_2 ที่มีลักษณะเป็น homozygous และ heterozygous สำหรับจีน NPT ตามลำดับ)

- การกระจายของลักษณะ $Km^R : Km^S$ ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่า 1:0 หรือ 3:1 (รูปที่ 6) จัดเป็นการถุกยับยั้งบางส่วน

- การกระจายของลักษณะ $Km^R : Km^S$ ในอัตราส่วน 0:1 (รูปที่ 7) จัดเป็นการถุกยับยั้งทั้งหมด

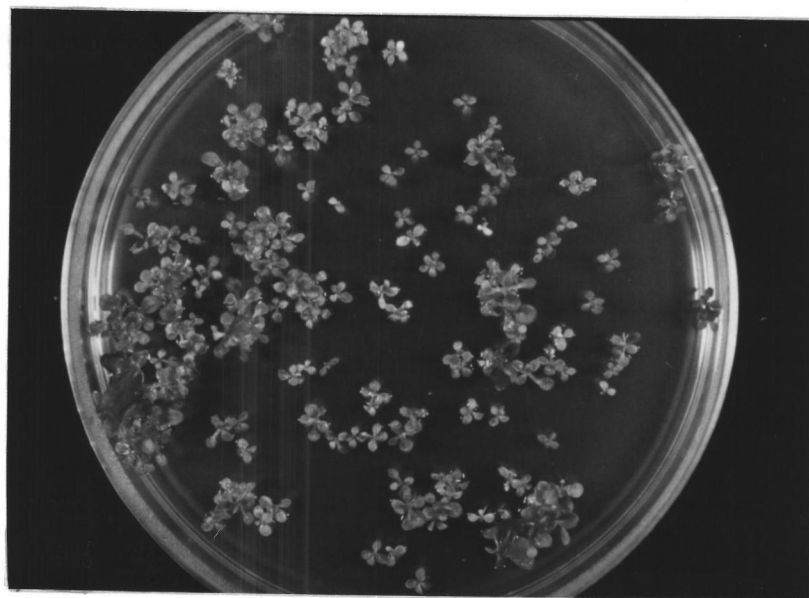
เมื่อวิเคราะห์สัดส่วนของพืช ที่ยังคงแสดงความสามารถในการต้านทานาไมซินตามปกติ, พืชที่ความสามารถในการต้านทานาไมซินถุกยับยั้งบางส่วน และพืชที่ความสามารถในการต้านทานาไมซินถุกยับยั้งทั้งหมด จากจำนวนตัวอย่างรวม 26 ตัวอย่าง พบว่า ยังคงแสดงความสามารถในการต้านทานาไมซินหรือมีการแสดงออกของจีน NPT ตามปกติจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 15.4 % ความสามารถในการต้านทานาไมซินถุกยับยั้งบางส่วนหรือมีการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT บางส่วนจำนวน 18 ตัวอย่าง คิดเป็น 69.2 % และความสามารถในการต้านทานาไมซินถุกยับยั้งทั้งหมดหรือมีการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT ทั้งหมดจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 15.4 %



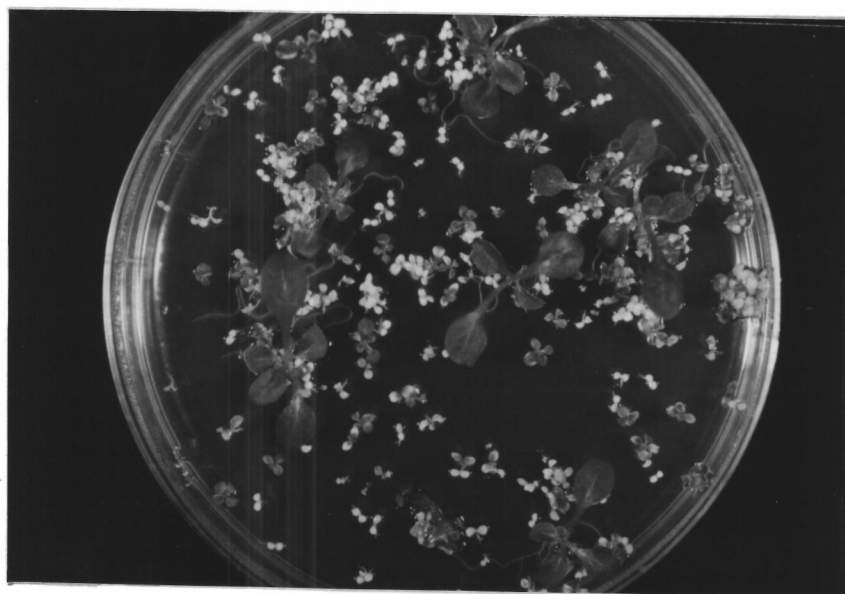
รูปที่ 4 การกระจายลักษณะ ที่ต้านคานาไมซิน/ไม่ต้านคานาไมซิน ของประชากรเมล็ดรุ่น R₃
ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

แฉกบนจากซ้ายไปขวา : นีชทดลองหมายเลข 8, 9, 10

แฉกล่างจากซ้ายไปขวา : นีชทดลองหมายเลข 11, 13, 14



รูปที่ 5 แสดงการกระจายลักษณะ ของจำนวนต้นที่ต้านคานาไมซิน / ไม่ต้านคานาไมซิน ใน อัตราส่วน 1:0



รูปที่ 6 แสดงการกระจายลักษณะ ของจำนวนต้นที่ต้านทานไรมิซิน / ไม่ต้านทานไรมิซิน ใน อัตราส่วนที่ต่ำกว่า 3:1



รูปที่ 7 แสดงการกระจายลักษณะ ของจำนวนต้นที่ต้านคานาไมซิน / ไม่ต้านคานาไมซิน ใน อัตราส่วน 0:1

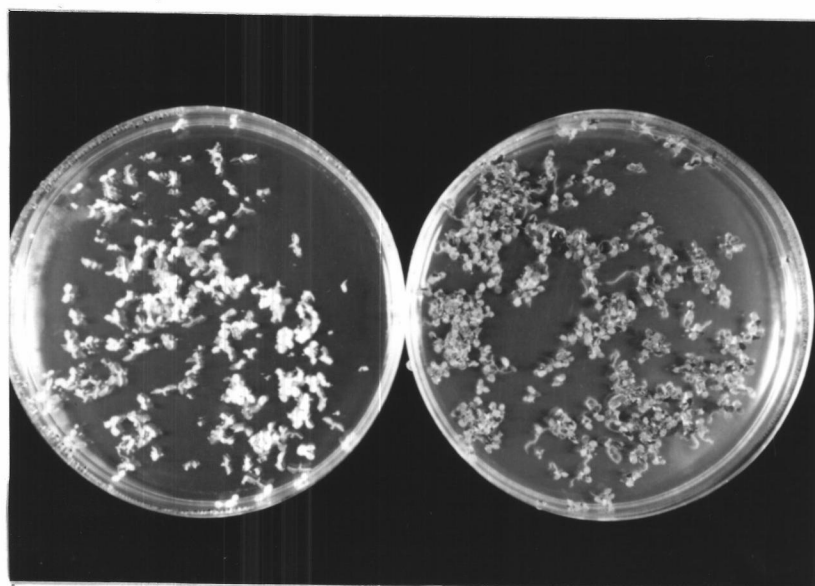
3.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 5-azacytidine ในการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้งการแสดงออก

ภายหลังการจำแนกระดับการเกิดการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT นำเมล็ดพืชรุ่น R_0 ที่มีความผิดปกติในการแสดงออกของจีน NPT ในกลุ่มที่เกิดการยับยั้งการแสดงออกอย่างสมบูรณ์ โดยที่เมล็ดดังกล่าวสามารถงอกได้ในจานเพาะเลี้ยงที่มีสารอาหาร MS แต่อกแล้วตายในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 100 mg/ml ดังรูปที่ 8 นำมาทำการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 5-azacytidine ในการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT โดยใช้ความเข้มข้นของ 5-azacytidine 1, 10 และ 100 μ M ผสมลงในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 และ 100 mg/ml แล้วศึกษาการกระจายของลักษณะ Km^R : Km^r ในสารอาหารดังกล่าว พบว่าที่ความเข้มข้นของ 5-azacytidine 100 μ M สามารถกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้งได้ดีที่สุด ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 5-azacytidine ในการกระตุ้นการ
แสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้งทั้งหมด

สารกระตุ้น	สัดส่วนของเมล็ดที่ต้านคานาไมซิน
1 μ M 5-AZC + 50 mg/l คานาไมซิน	0
1 μ M 5-AZC + 100 mg/l คานาไมซิน	0
10 μ M 5-AZC + 50 mg/l คานาไมซิน	++
10 μ M 5-AZC + 100 mg/l คานาไมซิน	+
100 μ M 5-AZC + 50 mg/l คานาไมซิน	++++
100 μ M 5-AZC + 100 mg/l คานาไมซิน	+++

- 0 = ไม่ต้านคานาไมซิน
 + = ต้านคานาไมซินในสัดส่วนเล็กน้อย
 ++ = ต้านคานาไมซินในสัดส่วนปานกลาง
 +++ = ต้านคานาไมซินในสัดส่วนมาก
 ++++ = ต้านคานาไมซินในสัดส่วนมากที่สุด



รูปที่ 8 แสดงลักษณะการเกิดการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT อย่างสมบูรณ์ (ซ้าย)
เปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นอ่อนที่มีการแสดงออกของจีน NPT เป็นปกติ (ขวา)

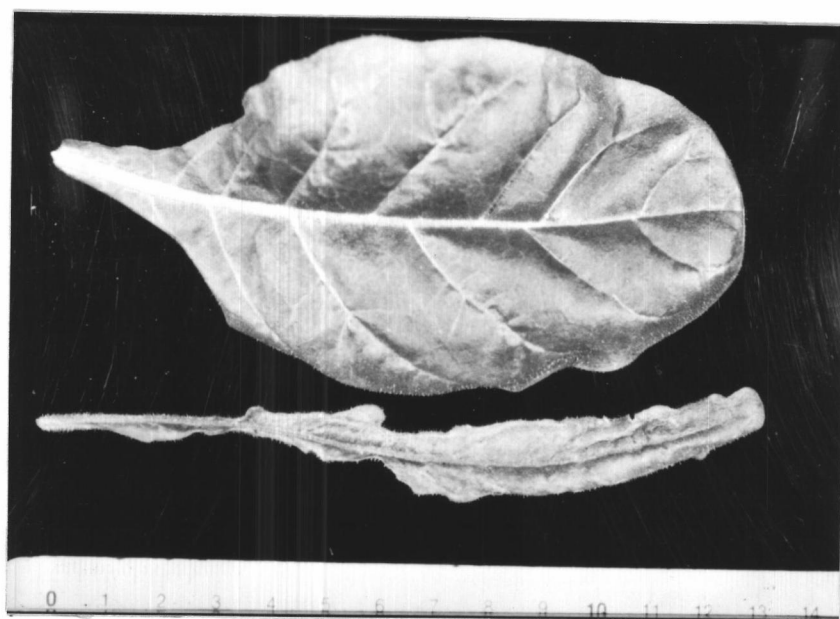
3.3 ผลข้างเคียงของ 5-azacytidine

เมื่อมีการนำเมล็ดพืชที่ผ่านการได้รับสาร 5-azacytidine ไปปลูกในกระถางดิน พบว่า พืชบางต้นมีลักษณะผิดปกติไปจากต้นปกติ ลักษณะผิดปกติที่สังเกตเห็นได้แก่

ใบ : พบตัวอย่างพืชบางต้นที่มีใบแคบลง หรือใบลักษณะหึ่งงอไม่เรียบ รวมทั้งพบใบที่มีลักษณะสีขาวซีด (รูปที่ 9 และ 10)

ลำต้น : พบตัวอย่างที่มีการแตกแขนงของลำต้นเร็วกว่าปกติ และมีจำนวนแขนงมากกว่าปกติ (รูปที่ 10)

ดอก : พบตัวอย่างที่มีลักษณะกลีบดอกผิดปกติ จนถึงมีความผิดปกติของยอดเกสรตัวเมีย และ อับละอองเกสรตัวผู้ เป็นผลให้บางตัวอย่างไม่สามารถสร้างเมล็ดได้ (รูปที่ 11)



รูปที่ 9 แสดงลักษณะใบของตัวอย่างพืชที่ผิดปกติ ภายหลังจากได้รับสาร 5-azacytidine
(ล่าง) เทียบกับใบพืชตัวอย่างที่ปกติ (บน)



รูปที่ 10 แสดงลักษณะลำต้นที่ผิดปกติ ภายหลังจากการได้รับสาร 5-azacytidine เทียบกับ ต้นปกติ (บนซ้าย)



รูปที่ 11 แสดงลักษณะดอกที่ผิดปกติ ภายหลังจากได้รับสาร 5-azacytidine

3.4 การศึกษาการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้งด้วย 5-azacytidine

ภายหลังจากการศึกษา และได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 5-azacytidine สำหรับการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้ง คือที่ขนาดความเข้มข้น 100 μ M จึงทำการผสม 5-azacytidine ที่ความเข้มข้น 100 μ M ลงในสารอาหารคัดเลือกกิ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 mg/ml และ 100 mg/ml เพื่อประสิทธิภานในการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้ง โดยทดสอบกับพืชในกลุ่มที่จีน NPT ถูกยับยั้งบางส่วน และกลุ่มที่จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด โดยใช้พืชที่จีน NPT แสดงออกเป็นปกติเป็นชุดควบคุม

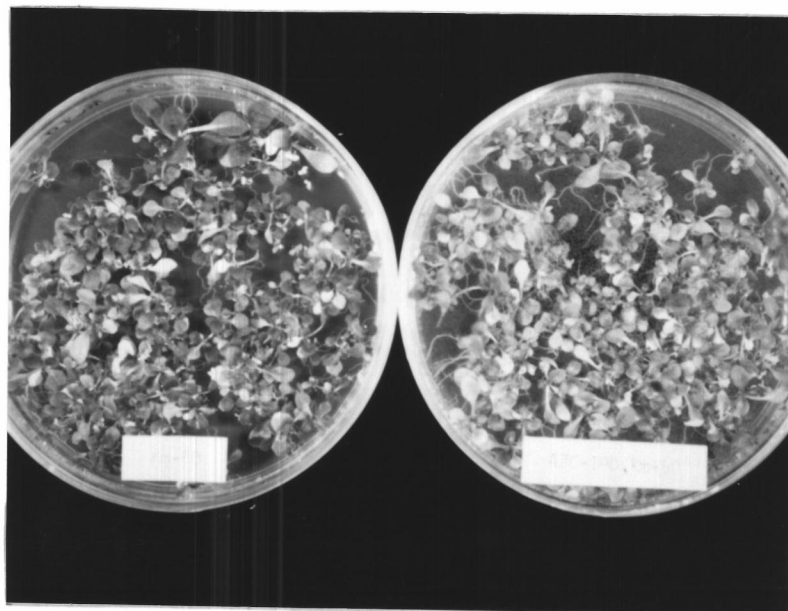
ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ที่ถูกยับยั้งด้วย 5-azacytidine ในสารอาหารคัดเลือกกิ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 mg/ml ร่วมกับ 100 μ M 5-azacytidine และในสารอาหารคัดเลือกกิ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 100 mg/ml ร่วมกับ 100 μ M 5-azacytidine แสดงในตารางที่ 4 และแสดงผลบางส่วนในรูปที่ 12, 13, 14, 15, 16 และ 17

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบสัดส่วนระหว่าง จำนวนต้นที่ตาย/จำนวนต้นที่ไม่ตายคานาไมซิน ในสารอาหารตัดเล็อกทั้ง MS ที่มี 50 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน, 50 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน+100 μM 5-azacytidine, 100 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน, 100 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน+100 μM 5-azacytidine ในพืชทดลอง กลุ่มที่สน NPT ถูกเลี้ยงบางส่วน, สีน NPT ถูกเลี้ยงทั้งหมด, สีน NPT แสดงออกปกติ

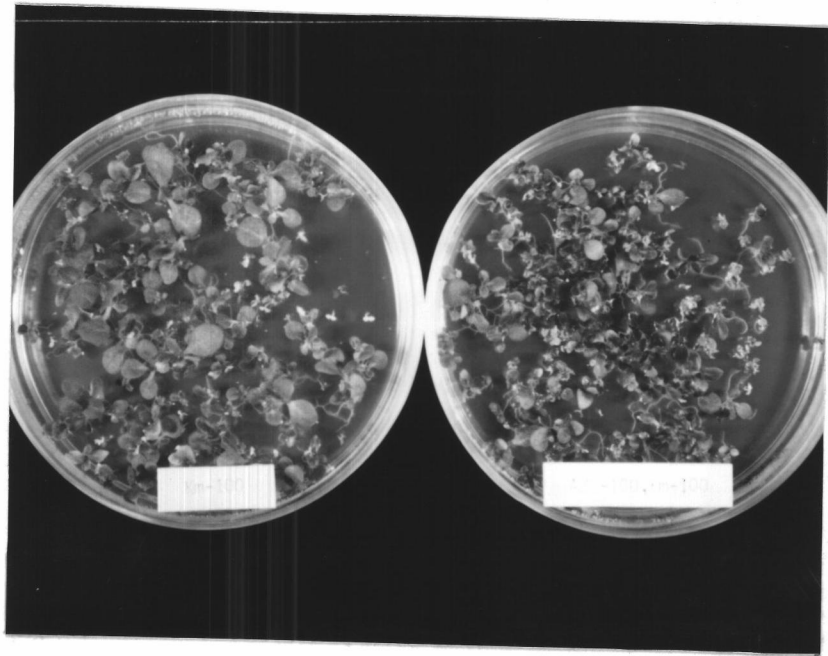
กลุ่มของพืชทดลอง	หมายเลข	การกระจายในสารอาหาร ตัดเล็อกที่มี 50 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน		การกระจายในสารอาหาร ตัดเล็อกที่มี 50 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน + 100 μM 5-azacytidine		การกระจายในสารอาหาร ตัดเล็อกที่มี 100 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน		การกระจายในสารอาหาร ตัดเล็อกที่มี 100 $\mu\text{g/l}$ คานาไมซิน + 100 μM 5-azacytidine	
		$K_m^R : K_m^S$	อัตราส่วน	$K_m^R : K_m^S$	อัตราส่วน	$K_m^R : K_m^S$	อัตราส่วน	$K_m^R : K_m^S$	อัตราส่วน
สีน NPT ถูกเลี้ยงบางส่วน	1	213 : 11	19.36 : 1	225 : 0	1.00 : 0	201 : 10	20.10 : 1	235 : 0	1.00 : 0
	19	32 : 144	0.22 : 1	155 : 61	2.54 : 1	18 : 236	0.08 : 1	110 : 46	2.40 : 1
	22	198 : 7	28.28 : 1	189 : 2	94.50 : 1	214 : 13	16.46 : 1	212 : 3	70.67 : 1

ตารางที่ 4 (ต่อ)

กลุ่มของพืชทดลอง	หมายเลข	การกระจายในสารอาหาร		การกระจายในสารอาหาร		การกระจายในสารอาหาร		การกระจายในสารอาหาร	
		ตัดเลือกที่ 50 mg /l	คานาไมซิน	ตัดเลือกที่ 50 mg /l	คานาไมซิน	ตัดเลือกที่ 100 mg/l	คานาไมซิน	ตัดเลือกที่ 100 mg/l	คานาไมซิน + 100 μM 5-azacytidine
		Km ^r : Km ^s	อัตราส่วน	Km ^r : Km ^s	อัตราส่วน	Km ^r : Km ^s	อัตราส่วน	Km ^r : Km ^s	อัตราส่วน
ยีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด	10	0 : 192	0 : 1	30 : 129	0.23 : 1	0 : 214	0 : 1	15 : 153	0.10 : 1
	16	0 : 187	0 : 1	163 : 95	1.72 : 1	0 : 170	0 : 1	79 : 75	1.05 : 1
	21	0 : 148	0 : 1	253 : 10	25.30 : 1	0 : 157	0 : 1	50 : 133	0.38 : 1
	25	0 : 174	0 : 1	72 : 103	0.70 : 1	0 : 188	0 : 1	43 : 202	0.21 : 1
ยีน NPT แสดงออกปกติ	24	177 : 0	1 : 0	186 : 0	1 : 0	194 : 0	1 : 0	179 : 0	1 : 0



รูปที่ 12 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ด้วย $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine ในพืช
ทดลองหมายเลข 1 ซึ่งมีระดับการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT บางส่วน
ชวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml + $100 \mu\text{M}$ 5 Aza-C
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml

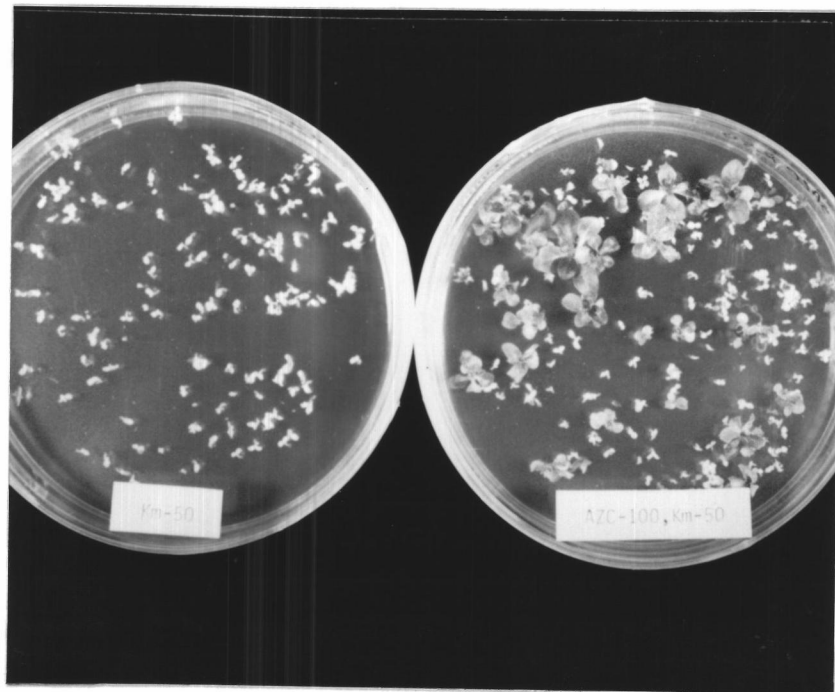


รูปที่ 13 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของยีน NPT ด้วย $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine ในพืช

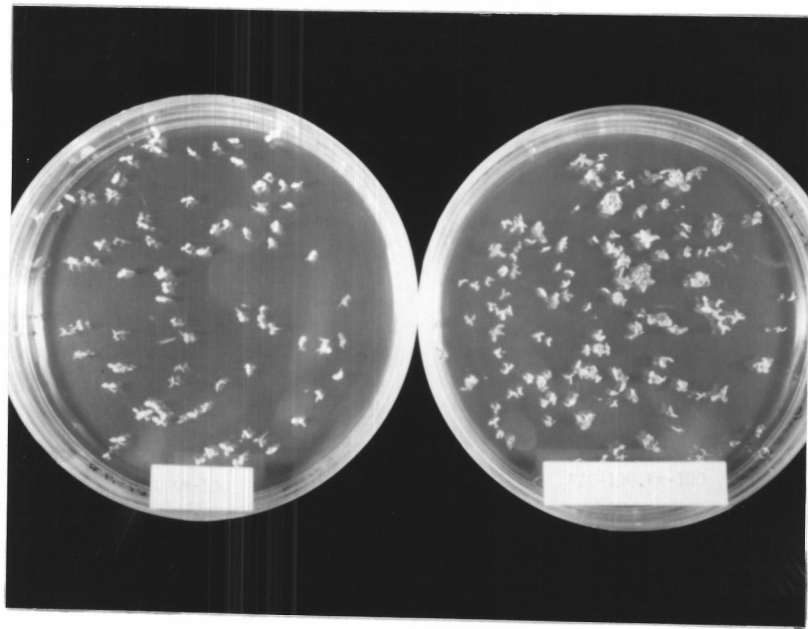
ทดลองหมายเลข 1 ซึ่งมีระดับการยับยั้งการแสดงออกของยีน NPT บางส่วน

ขวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml + $100 \mu\text{M}$ 5 Aza-C

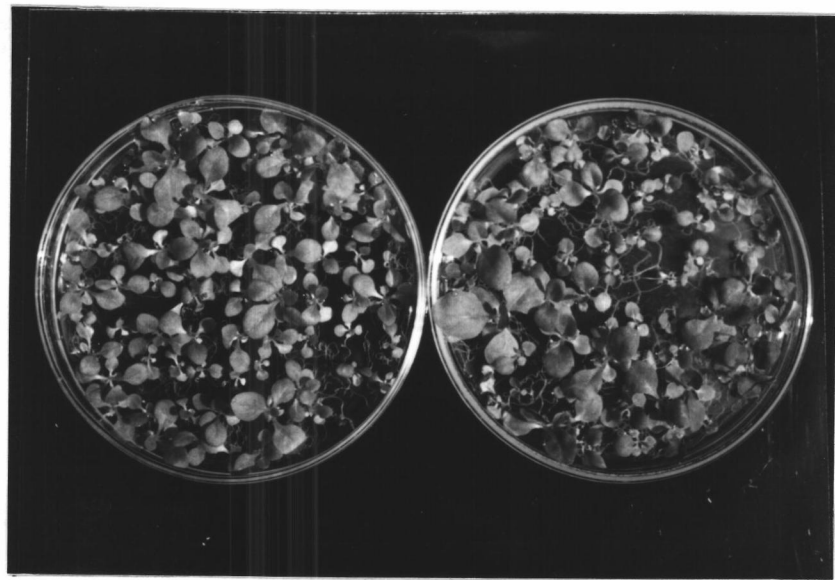
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml



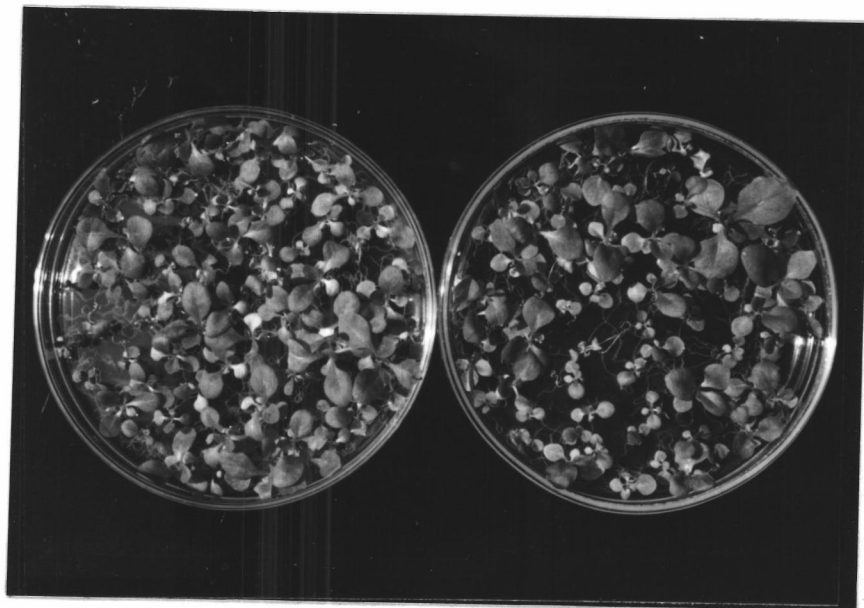
รูปที่ 14 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ด้วย 100 μ M 5-azacytidine ในพืช
ทดลองหมายเลข 25 ซึ่งมีระดับการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT ทั้งหมด
ขวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml + 100 μ M 5 Aza-C
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml



รูปที่ 15 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ด้วย $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine ในพืช
ทดลองหมายเลข 25 ซึ่งมีระดับการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT ทั้งหมด
ขวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml + $100 \mu\text{M}$ 5 Aza-C
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml



รูปที่ 16 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ด้วย $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine ในพืช
ทดลองหมายเลข 24 ซึ่งมีระดับการแสดงออกของจีน NPT เป็นปกติ
ขวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml + $100 \mu\text{M}$ 5 Aza-C
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 50 mg/ml



รูปที่ 17 ผลการกระตุ้นการแสดงออกของจีน NPT ด้วย $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine ในพืช
ทดลองหมายเลข 24 ซึ่งมีระดับการแสดงออกของจีน NPT เป็นปกติ
ขวา : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml + $100 \mu\text{M}$ 5 Aza-C
ซ้าย : ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS + Km 100 mg/ml

3.5 การศึกษาการแสดงผลของจีน NPT ในประชากรเมล็ดรุ่นต่อไป (R_4) ภายหลังจาก
ได้รับการกระตุ้นด้วย 100 μ M 5-azacytidine

ทำการคัดเลือกต้นพืชทดลอง (หมายเลข 16) ที่กลับมาแสดงความสามารถ
ในการต้านทานไนซินได้ใหม่ ในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 mg/ml
ร่วมกับ 100 μ M 5-azacytidine จำนวน 10 ต้น และในสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง
MS ที่มีคานาไมซิน 100 mg/ml ร่วมกับ 100 μ M 5-azacytidine จำนวน 10 ต้น
นำไปปลูกในกระถางดิน เมื่อพืชออกดอกทำการผสมเกสรทั้งแบบ selfing และ back-
crossing แล้วนำเมล็ดที่ได้ (รุ่น R_4) ไปเพาะลงบนสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มี
คานาไมซิน 100 mg/ml ตรวจสอบลักษณะการกระจายอัตราส่วน ของจำนวนเมล็ดที่ต้าน
คานาไมซิน/ไม่ต้านคานาไมซิน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5 อัตราส่วนจำนวนเมล็ดที่ต้านคานาไมซิน/ไม่ต้านคานาไมซิน ของประชากรรุ่น R_4 ภายหลังจากได้รับ $100 \mu\text{M}$ 5-Azacytidine ในกลุ่มของพืชทดลองที่ผ่านการคัดเลือกในสารอาหารคัดเลือกที่มี 50 mg/l คานาไมซิน ร่วมกับ $100 \mu\text{M}$ 5-azacytidine

ต้นที่	Selfing		Back-crossing	
	จำนวนต้นที่ต้าน/ จำนวนต้นที่ไม่ต้าน คานาไมซิน $Km^R : Km^s$	อัตราส่วน	จำนวนต้นที่ต้าน/ จำนวนต้นที่ไม่ต้าน คานาไมซิน $Km^R : Km^s$	อัตราส่วน
1	2 : 84	0.02 : 1	48 : 80	0.60 : 1
2	0 : 220	0 : 1	0 : 188	0 : 1
3	8 : 65	0.12 : 1	3 : 102	0.03 : 1
4	9 : 96	0.09 : 1	0 : 191	0 : 1
5	9 : 173	0.05 : 1	0 : 174	0 : 1
6	14 : 80	0.17 : 1	0 : 178	0 : 1
7	19 : 136	0.14 : 1	92 : 98	0.94 : 1
8	10 : 75	0.13 : 1	1 : 101	0.01 : 1
9	89 : 114	0.78 : 1	71 : 74	0.96 : 1
10	0 : 177	0 : 1	0 : 193	0 : 1

ตารางที่ 6 อัตราส่วนจำนวนเมล็ดที่ต้านคานาไมซิน/ไม่ต้านคานาไมซิน ของประชากรรุ่น R_4 ภายหลังจากการได้รับ 100 μ M 5-Azacytidine ในกลุ่มของพืชทดลองที่ผ่านการคัดเลือกในสารอาหารคัดเลือกที่มี 100 μ g/l คานาไมซิน ร่วมกับ 100 μ M 5-azacytidine

ต้นที่	Selfing		Back-crossing	
	จำนวนต้นที่ต้าน/ จำนวนต้นที่ไม่ต้าน คานาไมซิน $K_m^R : K_m^s$	อัตราส่วน	จำนวนต้นที่ต้าน/ จำนวนต้นที่ไม่ต้าน คานาไมซิน $K_m^R : K_m^s$	อัตราส่วน
1	11 : 223	0.05 : 1	0 : 188	0 : 1
2	63 : 220	0.20 : 1	10 : 101	0.10 : 1
3	133 : 87	1.53 : 1	0 : 176	0 : 1
4	114 : 48	2.38 : 1	20 : 106	0.19 : 1
5	10 : 75	0.13 : 1	65 : 63	1.03 : 1
6	49 : 257	0.19 : 1	3 : 90	0.03 : 1
7	0 : 185	0 : 1	0 : 194	0 : 1
8	0 : 191	0 : 1	0 : 168	0 : 1
9	94 : 174	0.54 : 1	0 : 172	0 : 1
10	41 : 153	0.27 : 1	31 : 81	0.38 : 1

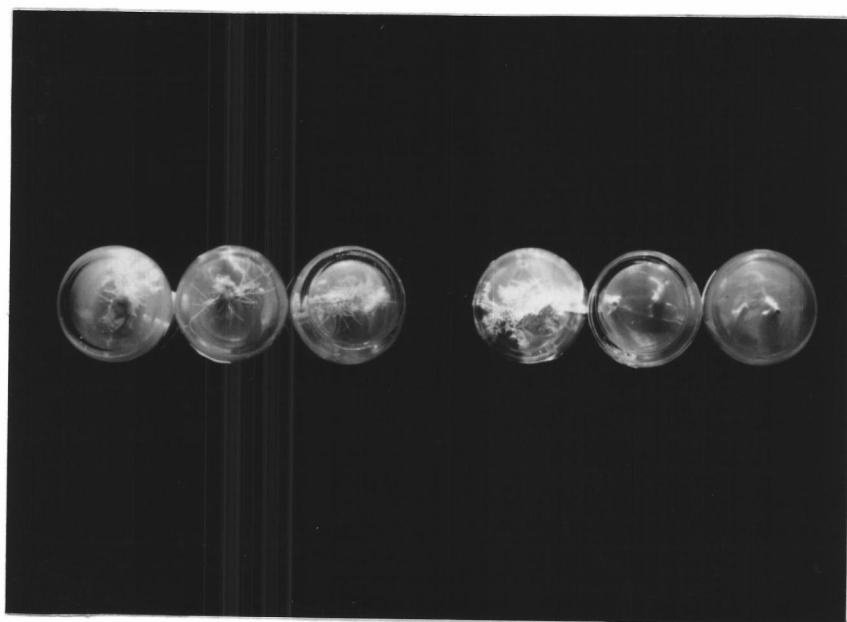
และเพื่อเป็นการตรวจสอบว่า การเกิดการยับยั้งการแสดงออกของจีน NPT นี้เกิดขึ้นในระยะก่อนการสร้างเมล็ด หรือภายหลังการสร้างเมล็ด จึงทำการศึกษาความสามารถในการแตกรากของยอดอ่อนของต้น ในประชากรรุ่นต่อไป (R_4) จำนวน 20 ตัวอย่าง (จากตารางที่ 5 และ 6) บนสารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 และ 100 mg/ml ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7 และ รูปที่ 18 แสดง rooting test เปรียบเทียบระหว่างต้นที่เป็น positive test โดยแตกรากได้ในสารอาหารกึ่งแข็ง MS, สารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 50 mg/ml, สารอาหารคัดเลือกกึ่งแข็ง MS ที่มีคานาไมซิน 100 mg/ml และ negative test ซึ่งจะไม่สามารถแตกรากได้ในสารอาหารดังกล่าว

ตารางที่ 7 ผลการศึกษาเปรียบเทียบ rooting test

จำนวนตัวอย่าง (ต้น)	การแตกรากในสารอาหารคัดเลือก ที่มีคานาไมซิน 50 mg/l	การแตกรากในสารอาหารคัดเลือก ที่มีคานาไมซิน 100 mg/l
20	2 **	1 *

* คือต้นที่ 4 ในตารางที่ 6 สามารถแตกรากทั้งในสารอาหารคัดเลือกที่มีคานาไมซิน 50 mg/l และ 100 mg/l

** อีกต้นที่สามารถแตกรากได้ เฉพาะในสารอาหารคัดเลือกที่มีคานาไมซิน 50 mg/ml คือ ต้นที่ 9 ในตารางที่ 5



รูปที่ 18 ผลการศึกษา rooting test เปรียบเทียบระหว่างต้นที่เป็น positive test และ negative test

จากซ้ายไปขวา (ทวดที่ 1-3) : ในสารอาหาร MS ,ในสารอาหาร MS + Km
50 mg/ml ,ในสารอาหาร MS + Km 100
mg/ml (positive test)

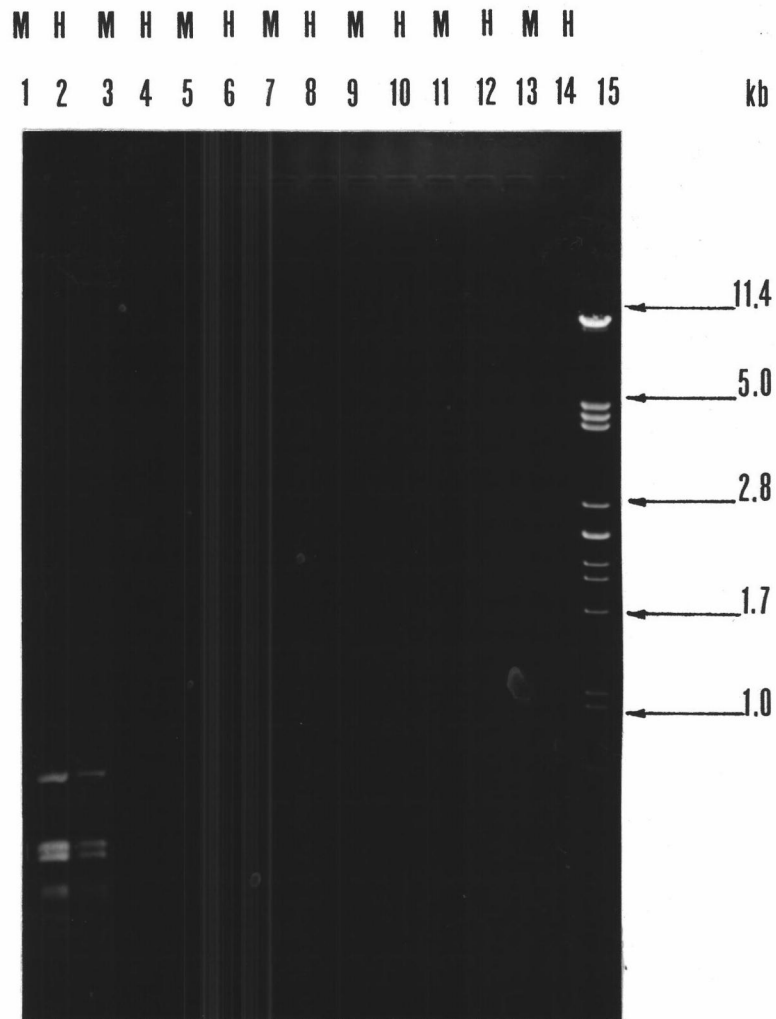
จากซ้ายไปขวา (ทวดที่ 4-6) : ในสารอาหาร MS ,ในสารอาหาร MS + Km
50 mg/ml ,ในสารอาหาร MS + Km 100
mg/ml (negative test)

3.6 การศึกษาดีเอ็นเอเปรียบเทียบก่อนและหลังการกระตุ้นด้วย 5-Azacytidine

3.6.1 Serial dilution ของพลาสมิด pGP6 ตัดด้วย isoschizomeric enzymes; MspI, HpaII

ผลการแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอของพลาสมิด pGP6 ที่ความเจือจาง 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ โดยการตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI และ HpaII แล้ววิเคราะห์ที่ชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 0.8, 0.6 และ 0.5 kb ตามลำดับ (รูปที่ 19)

เมื่อทำการโพรบด้วย EcoRI fragment ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของพลาสมิด pGP6 ขนาด 1.6 kb ที่ทำการติดฉลากรังสีด้วย $\alpha\text{-}^{32}\text{P}$ dATP โดยวิธี Random primed labelling พบว่าชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ ที่สามารถไฮบริดซ์กับโพรบดังกล่าว คือ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตำแหน่งขนาด 0.8, 0.6 และ 0.5 kb ตามลำดับ (รูปที่ 20)

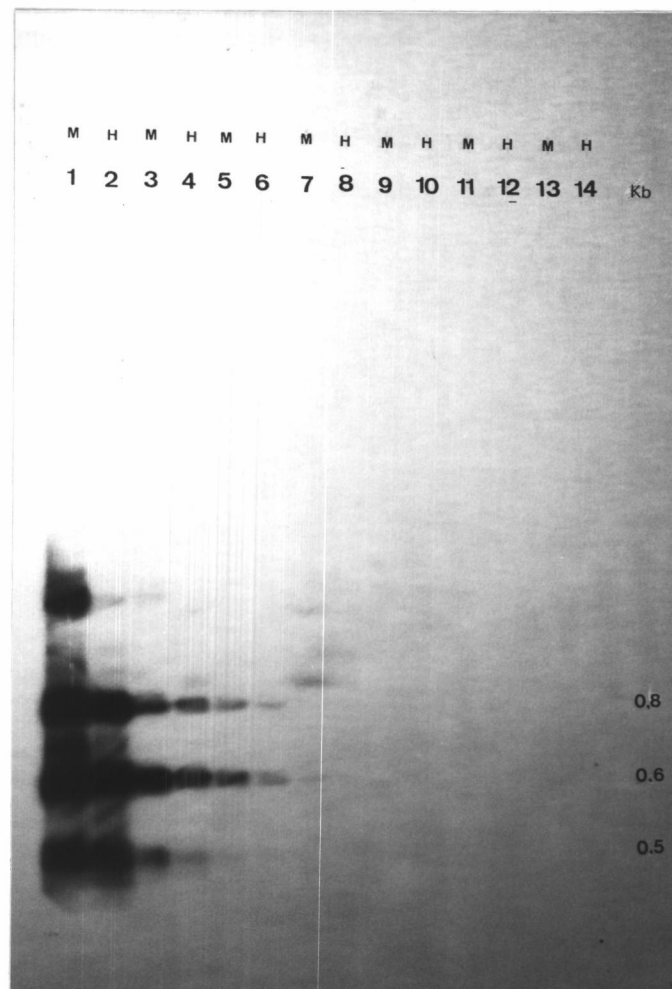


รูปที่ 19 ผลการทำ Serial dilution ของพลาสมิด pGP6 ตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI (M) และ HpaII (H) วิเคราะห์ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ใน 0.8 % agarose gel , ความต่างศักย์ 35 โวลต์ , เวลา 16 ชั่วโมง

เลนที่ 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 คือ 1 μ l 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} μ g/ μ l pGP6 ตามลำดับ ตัดด้วย MspI

เลนที่ 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 คือ 1 μ l 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} μ g/ μ l pGP6 ตามลำดับ ตัดด้วย HpaII

เลนที่ 15 คือ 20 μ l แลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วย PstI



รูปที่ 20 แสดง Southern blot analysis ของพลาสมิด pGP6 ตัดด้วย isoschizomeric enzyme ; MspI (M) และ HpaII (H) โพรบด้วย 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6 ใช้ เวลาในการ expose X-ray film นาน 6 ชั่วโมง

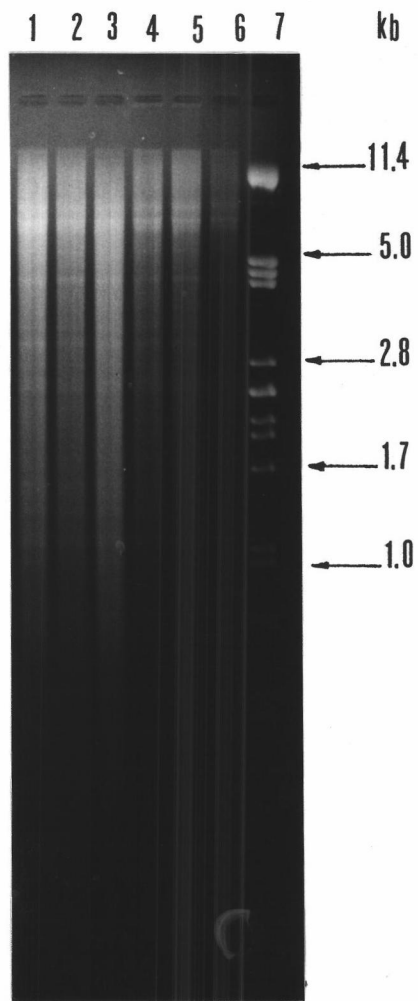
เลขที่ 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 คือ $1 \mu\text{l}$ 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ pGP6 ตามลำดับ ตัดด้วย MspI

เลขที่ 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 คือ $1 \mu\text{l}$ 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ pGP6 ตามลำดับ ตัดด้วย HpaII

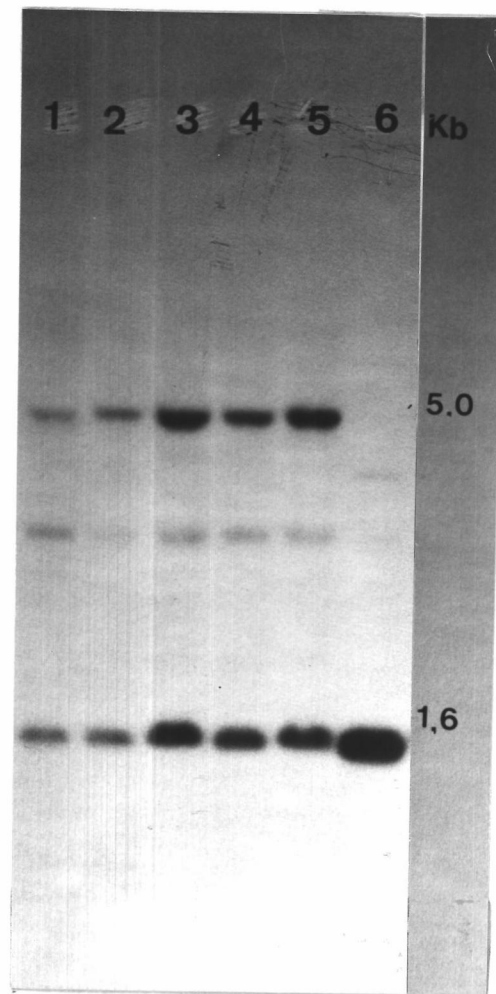
3.6.2 การตรวจสอบจีน NPT ในจีโนมคลีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น R₂

ผลการตรวจสอบจีน NPT ในจีโนมคลีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น R₂ (พืชทดลอง หมายเลข 10, 16, 21, 1, 24 จากตารางที่ 2) ตัดด้วยเอนไซม์ EcoRI แล้ว วิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ได้แบบแผนการตัดจีโนมคลีเอ็นเอลักษณะเป็น smear (smear band) (รูปที่ 21)

เมื่อทำการโพรบด้วย EcoRI fragment ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของพลาสมิด pGP6 ขนาด 1.6 kb ซึ่งเป็น sequence ของจีน NPT ที่ทำการติดฉลากรังสีด้วย α -³²P dATP โดยวิธี Random primed labelling พบว่าทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ (เลขที่ 1-5) พบจีน NPT ยังคงปรากฏอยู่ที่ทั้งในรูปปกติ (ขนาด 1.6 kb) และรูปที่เปลี่ยนไปเนื่องจากเกิด recombination (ขนาด 5.0 kb) เหมือนกันในทุกตัวอย่าง (รูปที่ 22)



- รูปที่ 21 แสดงผลการตัดจีโนมิคดีเอ็นเอ ของพืชทดลองรุ่น R₂ ด้วยเอนไซม์ EcoRI วิเคราะห์โดยวิธี agarose gel electrophoresis ใน 0.8 % agarose gel ความต่างศักย์ 35 โวลต์, เวลา 16 ชั่วโมง
- เลนที่ 1 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 10 (จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
- เลนที่ 2 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 16 (จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
- เลนที่ 3 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 21 (จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
- เลนที่ 4 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1 (จีน NPT ถูกยับยั้งบางส่วน)
- เลนที่ 5 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 24 (จีน NPT แสดงออกปกติ)
- เลนที่ 6 คือ 3 μ l พลาสมิด pGP6 (10^{-5} μ g/ μ l)
- เลนที่ 7 คือ 20 μ l แลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วย PstI



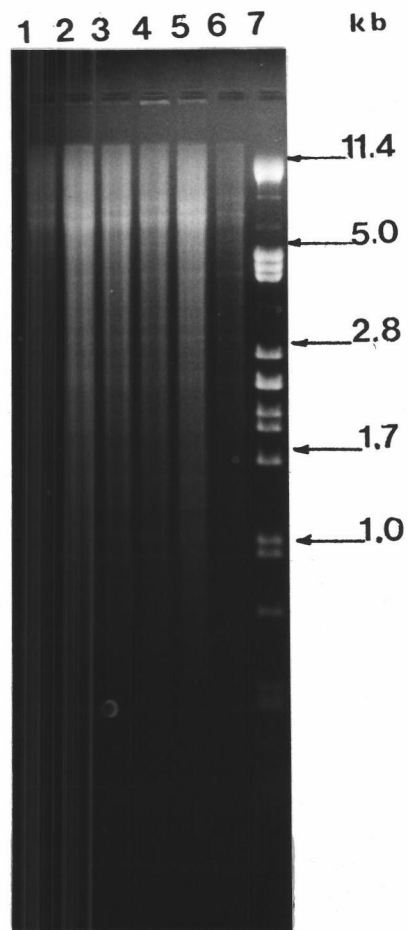
รูปที่ 22 แสดง Southern blot analysis ของจีโนมดีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น R_2 ตัดด้วยเอนไซม์ EcoRI โพรบด้วย 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6

- เลนที่ 1 คือ พืชทดลองหมายเลข 10 (จีโนม NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
 เลนที่ 2 คือ พืชทดลองหมายเลข 16 (จีโนม NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
 เลนที่ 3 คือ พืชทดลองหมายเลข 21 (จีโนม NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด)
 เลนที่ 4 คือ พืชทดลองหมายเลข 1 (จีโนม NPT ถูกยับยั้งบางส่วน)
 เลนที่ 5 คือ พืชทดลองหมายเลข 24 (จีโนม NPT แสดงออกปกติ)
 เลนที่ 6 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

3.6.3 การตรวจสอบ จีน NPT ในจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น R₃

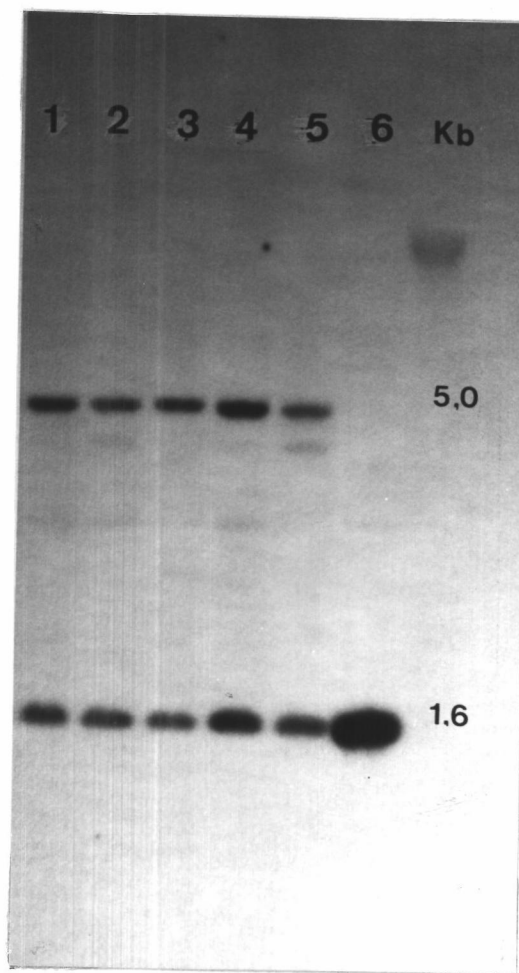
ผลการตรวจสอบจีน NPT ในจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น F₃ (พืชทดลอง หมายเลข 1, 2, 3, 4, 5 จากตารางที่ 6) ตัดด้วยเอนไซม์ EcoRI แล้ววิเคราะห์ชิ้นส่วนคีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ได้แบบแผนการตัดจีโนมคีเอ็นเอลักษณะเป็น smear (smear band) (รูปที่ 23)

เมื่อทำการโพรบด้วย EcoRI fragment ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของพลาสมิด pGP6 ขนาด 1.6 kb (ซึ่งเป็น sequence ของจีน NPT) ที่ทำการติดฉลากรังสีด้วย α -³²PdATP โดยวิธี Random primer labelling พบว่าทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ (เลขที่ 1-5) พบจีน NPT ยังคงปรากฏอยู่ทั้งในรูปปกติ (ขนาด 1.6 kb) และรูปที่เปลี่ยนไปเนื่องจากเกิด recombination (ขนาด 5.0 kb) เหมือนกันในทุกตัวอย่าง (รูปที่ 24)



รูปที่ 23 แสดงผลการตัดจีโนมคอดีเอ็นเอ ของพืชทดลองรุ่น R_0 ด้วยเอนไซม์ EcoRI วิเคราะห์โดยวิธี agarose gel electrophoresis ใน 0.8 % agarose gel ความต่างศักย์ 35 โวลต์, เวลา 16 ชั่วโมง

เลนที่ 1 คือ 10 μg ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1
 เลนที่ 2 คือ 10 μg ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 2
 เลนที่ 3 คือ 10 μg ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 3
 เลนที่ 4 คือ 10 μg ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 4
 เลนที่ 5 คือ 10 μg ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 5
 เลนที่ 6 คือ 3 μl พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)
 เลนที่ 7 คือ 20 μl แลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วย PstI



รูปที่ 24 แสดง Southern blot analysis ของจีโนมดีเอ็นเอของพืชทดลองรุ่น R_3 ตัดด้วยเอนไซม์ EcoRI โพรบด้วย 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6

เลนที่ 1 คือ พืชทดลองหมายเลข 1

เลนที่ 2 คือ พืชทดลองหมายเลข 2

เลนที่ 3 คือ พืชทดลองหมายเลข 3

เลนที่ 4 คือ พืชทดลองหมายเลข 4

เลนที่ 5 คือ พืชทดลองหมายเลข 5

เลนที่ 6 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

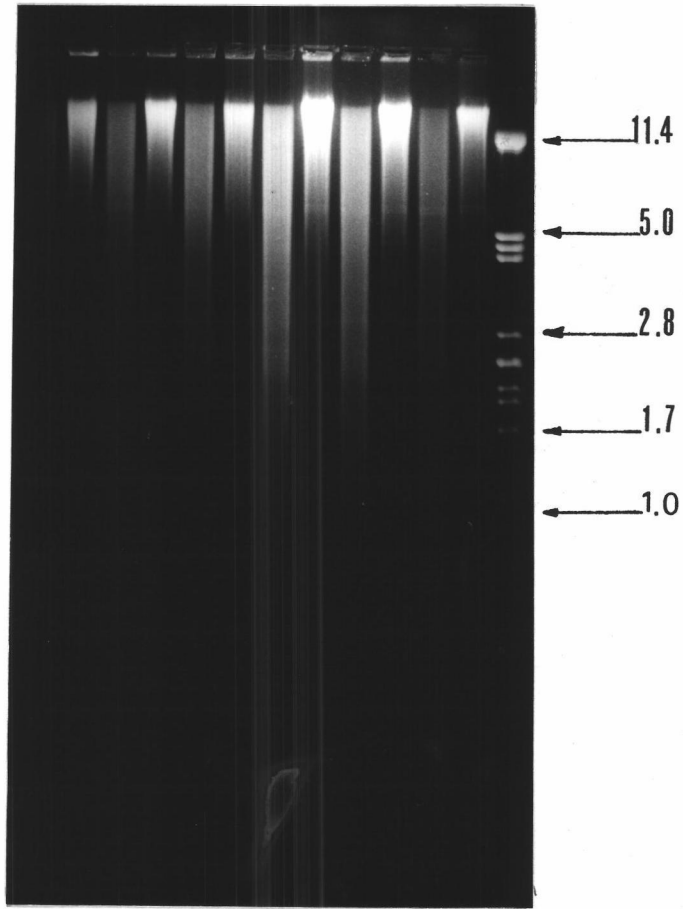
3.6.4 การตรวจสอบระดับความแตกต่างของจีน NPT ในจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลอง

รุ่น R₂ เมื่อตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI, HpaII

ผลการตรวจสอบระดับความแตกต่างของจีน NPT ในจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลอง รุ่น R₂ (หมายเลข 10 , 16 , 21 , 1 , 24 จากตารางที่ 2) โดยการตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI , HpaII แล้ววิเคราะห์ชิ้นส่วนคีเอ็นเอโดยวิธี agarose gel electrophoresis ได้แบบแผนการตัดจีโนมคีเอ็นเอเป็น 2 ลักษณะ คือ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ MspI จะมีลักษณะเป็น smear และเมื่อตัดด้วยเอนไซม์ HpaII พบลักษณะที่คีเอ็นเอบางส่วนไม่ถูกตัด (รูปที่ 25)

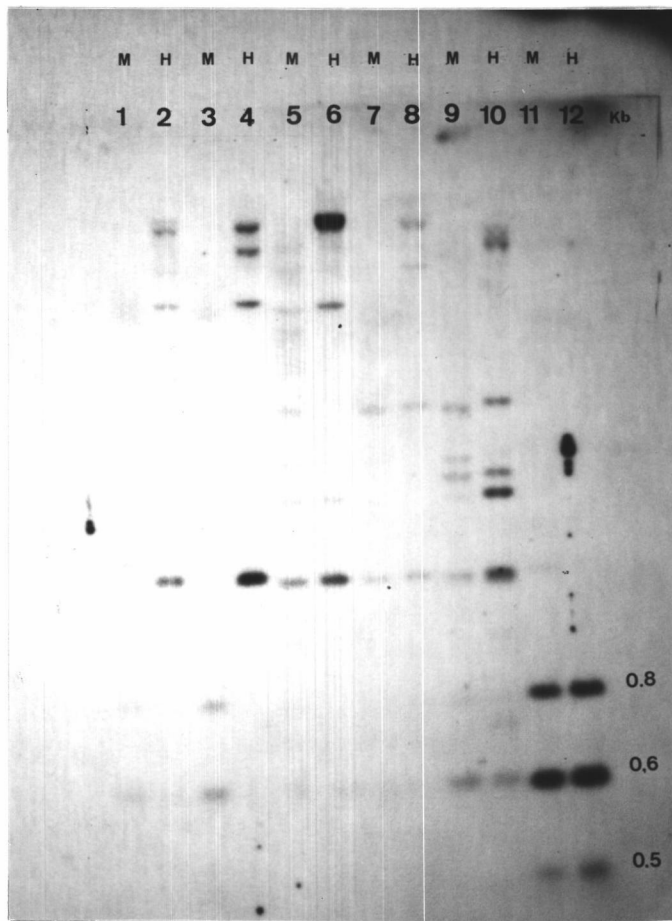
เมื่อโพรบด้วย α -³²P labelled 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6 ซึ่งเป็น sequence ของจีน NPT พบว่า ตัวอย่างจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลอง ที่จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด (เลขที่ 1-6) มีสัญญาณ autoradiogram ของ ชิ้นส่วนคีเอ็นเอ ที่ระดับโมเลกุลใหญ่กว่าในกลุ่มตัวอย่าง ที่คีเอ็นเอของพืชทดลองที่จีน NPT ถูกยับยั้งบางส่วน และ จีน NPT แสดงออกปกติ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ HpaII ซึ่ง แสดงให้เห็นว่า ในจีโนมคีเอ็นเอของพืชทดลองที่จีน NPT ถูกยับยั้งทั้งหมด มีระดับของการ เดิมหม่อนมูลเมทิลที่จีน NPT สูงกว่า (รูปที่ 26)

M H M H M H M H M H M H
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 kb



รูปที่ 25 แสดงผลการตัดจีโนมดีเอ็นเอ ของพืชทดลองรุ่น R₂ ตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI (M), HpaII (H) วิเคราะห์โดยวิธี agarose gel electrophoresis ใน 0.8 % agarose gel, ความต่างศักย์ 35 โวลต์ , เวลา 16 ชั่วโมง

- เลนที่ 1 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 10 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 2 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 10 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 3 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 16 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 4 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 16 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 5 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 21 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 6 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 21 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 7 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 8 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 9 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 24 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 10 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 24 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 11 คือ 3 μ l พลาสมิด pGP6 (10^{-5} μ g/ μ l) ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 12 คือ 3 μ l พลาสมิด pGP6 (10^{-5} μ g/ μ l) ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 13 คือ 20 μ l แลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วย PstI



- รูปที่ 26** แสดง Southern blot analysis ของจีโนมคิเอ็นเอ ของพืชทดลองรุ่น R₂ ตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI (M), HpaII (H) โพรบด้วย 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6
- เลขที่ 1 คือ พืชทดลองหมายเลข 10 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 2 คือ พืชทดลองหมายเลข 10 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 3 คือ พืชทดลองหมายเลข 16 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 4 คือ พืชทดลองหมายเลข 16 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 5 คือ พืชทดลองหมายเลข 21 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 6 คือ พืชทดลองหมายเลข 21 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 7 คือ พืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 8 คือ พืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 9 คือ พืชทดลองหมายเลข 24 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 10 คือ พืชทดลองหมายเลข 24 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 11 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 12 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ตัดด้วย HpaII

3.6.5 การตรวจสอบระดับความแตกต่างของจีน NPT ในจีโนมดีเอ็นเอของพืชทดลอง
รุ่น R₃ เมื่อตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI, HpaII

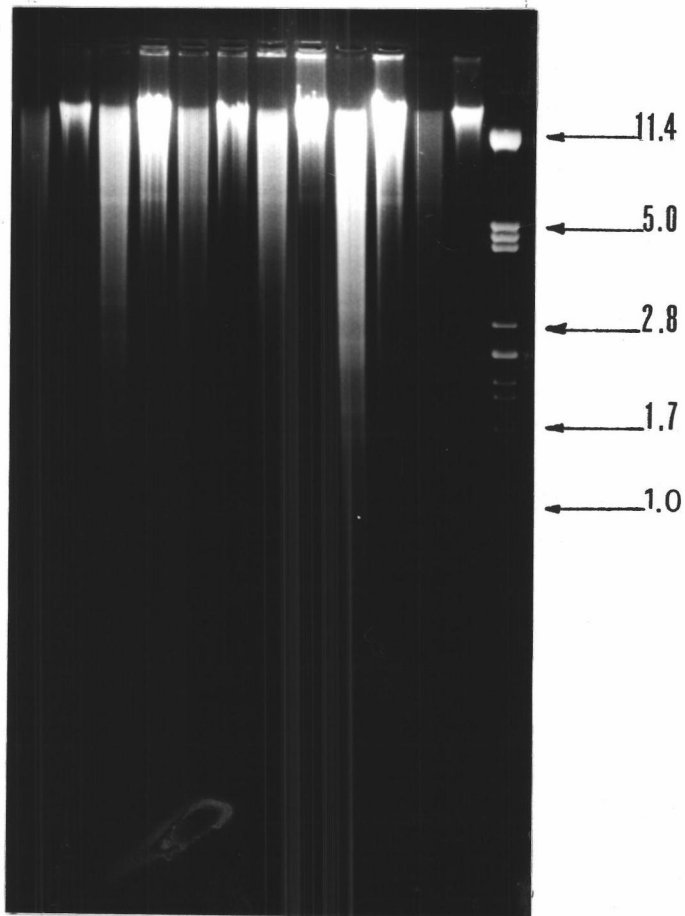
ผลการตรวจสอบระดับความแตกต่างของจีน NPT ในจีโนมดีเอ็นเอของพืชทดลอง
รุ่น R₃ (หมายเลข 1, 2, 3, 4, 5 จากตารางที่ 6) โดยการตัดด้วย isoschizomeric
enzymes ; MspI, HpaII แล้ววิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดยวิธี agarose gel
electrophoresis ได้แบบแผนการตัดจีโนมดีเอ็นเอเป็น 2 ลักษณะ คือ เมื่อตัดด้วย
เอนไซม์ MspI จะมีลักษณะเป็น smear และเมื่อตัดด้วยเอนไซม์ HpaII พบลักษณะที่
ดีเอ็นเอบางส่วนไม่ถูกตัด (รูปที่ 27)

เมื่อโพรบด้วย α -³²P labelled 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด
pGP6 ซึ่งเป็น sequence ของจีน NPT พบว่าทุกตัวอย่างของพืชทดลอง มีสัญญาณ
autoradiogram ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ที่ระดับโมเลกุลใหญ่ขึ้น (เทียบกับรูปที่ 26) เมื่อ
ตัดด้วยเอนไซม์ HpaII ซึ่งแสดงว่าทุกตัวอย่างของพืชทดลองรุ่น R₃ ที่นำมาทำการตรวจสอบ
มีระดับของการเติมหมู่อนุมูลเมทิลที่จีน NPT เพิ่มสูงขึ้น (รูปที่ 28)

M H M H M H M H M H M H

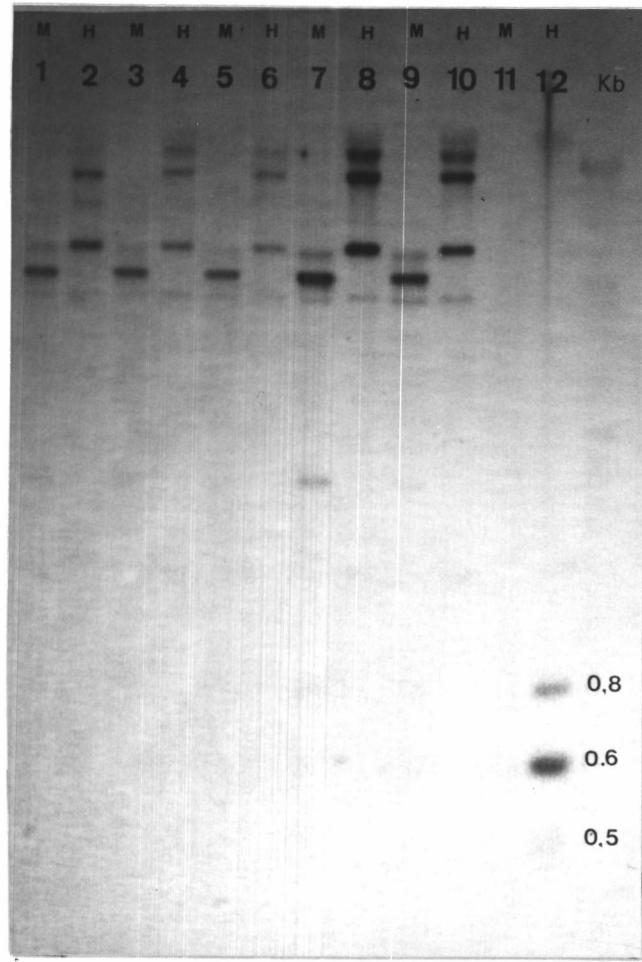
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

kb



รูปที่ 27 แสดงผลการตัดจีโนมดีเอ็นเอ ของพืชทดลองรุ่น R_3 ตัดด้วย isoschizomeric enzymes ; MspI (M), HpaII (H) วิเคราะห์โดยวิธี agarose gel electrophoresis ใน 0.8 % agarose gel , ความต่างศักย์ 35 โวลต์ , เวลา 16 ชั่วโมง

- เลนที่ 1 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 2 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 3 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 2 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 4 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 2 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 5 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 3 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 6 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 3 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 7 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 4 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 8 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 4 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 9 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 5 ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 10 คือ 10 μ g ดีเอ็นเอของพืชทดลองหมายเลข 5 ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 11 คือ 3 μ l พลาสมิด pGP6 (10^{-5} μ g/ μ l) ตัดด้วย MspI
 เลนที่ 12 คือ 3 μ l พลาสมิด pGP6 (10^{-5} μ g/ μ l) ตัดด้วย HpaII
 เลนที่ 13 คือ 20 μ l แลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วย PstI



- รูปที่ 28 แสดง Southern blot analysis ของจีโนมคัสเซียนเอ ของพืชทดลองรุ่น R₃ ตัดด้วย isoschimeric enzymes ; MspI (M), HpaII (H) โพรบด้วย 1.6 kb EcoRI fragment ของพลาสมิด pGP6
- เลขที่ 1 คือ พืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 2 คือ พืชทดลองหมายเลข 1 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 3 คือ พืชทดลองหมายเลข 2 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 4 คือ พืชทดลองหมายเลข 2 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 5 คือ พืชทดลองหมายเลข 3 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 6 คือ พืชทดลองหมายเลข 3 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 7 คือ พืชทดลองหมายเลข 4 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 8 คือ พืชทดลองหมายเลข 4 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 9 คือ พืชทดลองหมายเลข 5 ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 10 คือ พืชทดลองหมายเลข 5 ตัดด้วย HpaII
- เลขที่ 11 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ตัดด้วย MspI
- เลขที่ 12 คือ พลาสมิด pGP6 (10^{-5} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ตัดด้วย HpaII