# บทที่ 5

## วิจารณ์ผลการทดลอง

กลุ่มบัวชั้นในงานทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีลักษณะของใบประดับสีชมพูมากกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก และกลุ่มใบประดับสีชมพูน้อยกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก โดยพิจารณาจากสัดส่วนสีชมพูที่เกิดขึ้น ทั้งใบประดับส่วนล่าง (lower bract) และใบประดับส่วนบน (upper bract) โดยไม่ขึ้นกับความยาวของช่อดอก บัวชั้นกลุ่มที่มีใบประดับสีชมพูมากกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก นอกจากจะมีจำนวนชั้นกลีบใบประดับส่วนล่างที่มีสีชมพูมากกว่า แล้วยังมีสีชมพูเข้มกว่ากลุ่มบัวชั้นที่มีใบประดับสีชมพูน้อยกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก ในใบประดับส่วนล่างเป็นส่วนที่มีดอกจริงอยู่ ใน 1 กลีบมีดอกจริงอยู่ 3 ดอก โดยบานครั้งละ 1 ดอกเท่านั้น ใบประดับมีลักษณะปลายมนสีเขียวอ่อนที่ปลายมีสีชมพูอมม่วง ส่วนนี้มีอยู่ 10-15 ชั้น แต่ใบประดับส่วนบน ไม่มีดอกจริงอยู่ ปลายกลีบมีลักษณะแหลม เนื้อกลีบบาง และมีขนาดกลีบแคบยาวกว่าใบประดับส่วนล่าง สีขาวปลายสีชมพูอมม่วง มีอยู่ 5-6 ชั้น (วรรณภา, 2540) ซึ่งลักษณะความแตกต่างดังกล่าวมานี้ย่อมมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกิดขึ้นในแต่ละระยะและแต่ละชิ้นส่วนของบัวชั้นที่นำมาสกัด RNA

เนื่องจากลักษณะทางฟีโนไทป์ในระยะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative) ของบัวชั้นทั้ง 2 กลุ่มมีความใกล้เคียงกัน ไม่ว่าจะเป็นจำนวนใบ ลักษณะของใบ สีของใบที่เกิดขึ้น รวมทั้งความสูงของลำต้น ทำให้ไม่สามารถจำแนกได้ ต้องใช้ระยะที่บัวชั้นออกดอก (reproductive) ช่วงเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม ในการจำแนกกลุ่มบัวชั้นออกจากกัน ใช้ลักษณะสัดส่วนของสีกลีบใบประดับที่เกิดขึ้นในช่อดอก ซึ่งเป็นการจัดกลุ่มโดยอาศัยการตัดสินใจของผู้คัดเลือก การจำแนกดังกล่าวอาจได้ผลต่างไป หากลักษณะถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง และมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมร่วมด้วย (Hussain *et al*., 2008)

การใช้ลักษณะทางสัณฐานร่วมกับเทคนิคทางชีวโมเลกุล เช่นเครื่องหมายดีเอ็นเอจะช่วยให้การวิเคราะห์พันธุกรรมของพืชสกุล *Curcuma* sp. มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยลดข้อจำกัดด้านระยะเวลา และความแปรปรวนที่เกิดจากสภาพแวดล้อม (Das *et al*., 2001) ดังจะเห็นได้จากการจำแนกพันธุ์ลูกผสมของ *Curcuma* sp. พันธุ์หนึ่งที่เป็นที่รู้จักกันดีคือ ปทุมมามีลักษณะที่น่าสนใจคือมีก้านดอกแข็ง ช่อดอกมีขนาดใหญ่ เมื่อนำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ทำให้ลูกผสมที่ได้มีคุณภาพที่ดี การใช้ลักษณะภายนอกในการจำแนกปทุมมาลูกผสมออกจากพ่อแม่พันธุ์ทำได้ยากจึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลเข้ามาช่วยในการตรวจสอบ *Curcuma* sp. 20 สายพันธุ์ โดยใช้ 11 ไพรเมอร์ ให้แถบของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 100-2500 bp คัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่น่าสนใจนำไปหา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลำดับเบสเพื่อออกแบบเป็นไพรเมอร์ SCAR พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 600 bp ในปทุมมาทุกสายพันธุ์ รวมทั้งปทุมมาที่เป็นลูกผสม ซึ่งยังไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างปทุมมาที่เป็นลูกผสมออกจากพ่อแม่พันธุ์ได้ (Anuntalabhochai *et al*., 2007) อีกทั้งยังมีการใช้เทคนิค RAPD ร่วมกับเทคนิค ISSR ในการหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Curcuma* sp. 15 สายพันธุ์ พบว่าจากการใช้ไพรเมอร์ RAPD 39 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอ 376 แถบ มีเพียง 352 แถบที่ให้ความแตกต่างกัน และจากการใช้ไพรเมอร์ ISSR 8 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอ 91 แถบ มี 87 แถบที่มีความแตกต่างกัน จากข้อมูลความเหมือนและความต่างของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นใน *Curcuma* sp. 15 สายพันธุ์ นำไปจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม UPGMA สามารถจัดกลุ่มออกได้ 7 กลุ่ม ที่ค่อนข้างจะสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน (Syamkumar and Sasikumar, 2007) การนำเครื่องหมายโมเลกุลเข้ามาช่วยในการจำแนกกลุ่มของพืชที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ทำให้การจำแนกกลุ่มมีความแม่นยำ รวดเร็ว และลดระยะเวลาในการจัดจำแนก โดยไม่ต้องรอจนถึงระยะที่เหมาะสม

**การสกัด RNA และการทำ DNase digestion**

การใช้ Trizol™ Reagent (Invitrogen, USA) ในการสกัด RNA เป็นวิธีการสกัดแบบ single-step ซึ่งแยก RNA ออกจาก gDNA หลังจากที่สกัดด้วย guanidinium thiocyanate, sodium acetate, phenol และ chloroform แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง สารละลายที่ได้เกิดการแยกชั้น โดยที่สารละลาย RNA จะแยกอยู่ชั้นบน ส่วน gDNA และโปรตีนจะอยู่ในสารละลายชั้นล่าง จากนั้นจึงแยกสารละลายชั้นที่มี RNA ออกจาก gDNA และโปรตีน ตกตะกอน RNA ที่ได้ด้วย isopropanol (Chomozynski and Sacchi, 2006) ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ guanidine thiocyanate buffer ที่มีอยู่ใน Trizol reagent ในการสกัด RNA คือหลังจากที่นำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกสารละลาย RNA สารละลายที่ได้แยกชั้นไม่ชัดเจน (Ding *et al*., 2008) ในการทดลองใช้วิธีการนี้สกัด RNA จากส่วนต่างๆ ของบัวชั้น พบการปนเปื้อนของ gDNA เกิดขึ้นเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากในระหว่างที่มีการแยกสารละลายส่วนบนซึ่งเป็นสารละลายของ RNA มีการปนเปื้อนของสารละลายชั้นล่างซึ่งเป็นส่วนของ gDNA จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของ gDNA และสามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส การใช้ Trizol™ Reagent พบการปนเปื้อนของ gDNA ในปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับวิธีการอื่น (Portillo *et al*., 2006) แต่ยังต้องกำจัด gDNA ที่ปนเปื้อนโดยใช้เอนไซม์ *DNaseI* เนื่องจากอาจส่งผลต่อการทำปฏิกิริยา PCR และการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในภายหลัง (Dunican *et al*., 1997) คือ ผลผลิต PCR ไม่ได้มาจาก cDNA เป้าหมายที่ต้องการ แต่เป็นการเพิ่มปริมาณ gDNA ที่ปนเปื้อน เนื่องจากมีลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เบสคล้ายกัน (Lingerfelt *et al*., 2009) เมื่อได้ RNA ที่มีคุณภาพ ไม่มีการปนเปื้อนของ gDNA สามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์ cDNA ต่อไป

**การสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอ (cDNA synthesis)**

เนื่องจาก mRNA เป็นส่วนของยีนที่มีการแสดงออกในแต่ละช่วงระยะการเจริญเติบโต และแสดงออกในแต่ละส่วนของพืชแตกต่างกันจึงสามารถใช้เป็นตัวชี้บ่งรูปแบบการแสดงออกของยีน การเปลี่ยน mRNA ให้เป็น cDNA ใช้ชุดน้ำยา SuperScript III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, USA) ซึ่ง mRNA ที่กล่าวมานี้ทางด้านปลาย 3' ประกอบด้วย poly ($A^+$) จึงใช้ไพรเมอร์ oligoVT การตรวจสอบคุณภาพของ cDNA ใช้ไพรเมอร์ ndhB ซึ่งออกแบบจากส่วนหนึ่งของยีน chloroplast *ndhB* ที่ควบคุมการสร้าง NAD(P)H dehydrogenase ในกระบวนการการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีการแสดงออกในเนื้อเยื่อที่มีสีเขียว และสีขาว ดังนั้นจึงสามารถใช้ตรวจสอบผลการสังเคราะห์ cDNA (Karcher and Bock, 2002) เมื่อนำไพรเมอร์ ndhB up และ ndhB down มาใช้ตรวจสอบคุณภาพของ cDNA โดยเทคนิค PCR ผลที่ได้คือพบแถบของ cDNA ที่เกิดขึ้นมีขนาดประมาณ 500 bp เพียงแถบเดียวตรงตามขนาดที่คาดหวัง ซึ่งถ้าหากมีการปนเปื้อนของ gDNA จะพบแถบของดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ว่าแถบของ cDNA ที่เกิดขึ้น เนื่องจากใน gDNA มีส่วนที่ไม่ใช่รหัส (intron) รวมอยู่ด้วย ในขณะที่ cDNA มีเฉพาะส่วนที่เป็นรหัส (exon) จึงทำให้ขนาดที่ได้เล็กกว่า gDNA (Maier *el al*., 1992) แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์ cDNA ประสบความสำเร็จ

**การคัดกรองคู่ไพรเมอร์**

การคัดกรองคู่ไพรเมอร์ในการจำแนกความแตกต่างของบัวชั้นทั้ง 2 กลุ่ม พิจารณาจากความสามารถในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย โดยใช้เทคนิค PCR ผลผลิตจากคู่ไพรเมอร์ที่คัดเลือกควรมีปริมาณมากและแถบดีเอ็นเอที่ได้มีความคมชัด ซึ่งการคัดกรองไพรเมอร์ทำเพื่อคัดเลือก forward primer และ reverse primer ที่มีศักยภาพ ที่ไม่ทำให้เกิด primer dimer (Vallone and Butler, 2004) จากการทำปฏิกิริยา PCR เพื่อคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ในเบื้องต้น พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ แต่มีลักษณะเป็นรอยยาวต่อเนื่องและไม่ปรากฏแถบของดีเอ็นเอ เนื่องจากชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดต่างกันแบบต่อเนื่อง (สุรินทร์, 2552) ซึ่งอาจเกิดจากไพรเมอร์ที่ใช้เป็นแบบสุ่มและมีขนาดสั้นเพียง 10 นิวคลีโอไทด์ เกิดการจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายได้หลายตำแหน่ง ทำให้ไม่เห็นแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลผลิตของ PCR ที่ได้ในครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แรกมาเจือจางเพื่อใช้เป็น template ในการทำปฏิกิริยา PCR ครั้งที่ 2 พบว่าแถบดีเอ็นเอปรากฏขึ้นชัดเจน แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปจับกับตำแหน่งที่จำเพาะมากขึ้นจากการเพิ่มปริมาณของผลผลิตจาก PCR ในครั้งแรก สอดคล้องกับ Roux *et al.* (1998) ที่ศึกษายีนที่ตอบสนองต่อออกซินในต้นยาสูบ ใช้วิธี mRNA differential display โดยทำ PCR 2 รอบเช่นกัน ซึ่งในรอบแรกทำ PCR 40 รอบ ลักษณะแถบที่เกิดขึ้นเป็นรอยยาวหนา แถบของดีเอ็นเอไม่ชัดเจน ทำให้ยากต่อการวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อให้ได้ผลดีจึงนำ PCR ในรอบแรกมาเจือจางในอัตราส่วนหนึ่งต่อสิบ แล้วนำไปทำ PCR อีก 25 รอบ พบว่าแถบของดีเอ็นเอมีความชัดเจนมากขึ้น จากการคัดกรองไพรเมอร์ 58 ชนิด สามารถคัดเลือกได้ 6 ชนิด ส่วนอีก 52 ชนิดไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ เนื่องจากการไพรเมอร์ที่ใช้เป็นไพรเมอร์แบบสุ่ม ลำดับเบสที่มีอยู่อาจไม่ใช่เบสคู่สมกับดีเอ็นเอเป้าหมายจึงไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้

**การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในบัวชั้นโดยเทคนิค DDRT-PCR**

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในบัวชั้นที่มีความแตกต่างกันของสัดส่วนสีชมพูของใบประดับ โดยการใช้เทคนิค DDRT-PCR เมื่อใช้ไพรเมอร์ 6 ชนิดคือ OPD03 OPD07 OPD08 OPD20 OPF10 และ OPAB11 ร่วมกับ oligoVG และ oligoVA พบความแตกต่างของการแสดงออกของยีนในระยะการพัฒนาเดียวกัน ทั้งในส่วนของใบอ่อน ใบประดับส่วนล่าง (lower bract) และใบประดับส่วนบน (upper bract) ความแตกต่างของลักษณะสัณฐานใบประดับทั้ง 2 ส่วน รวมทั้งการมีดอกจริงในกลีบประดับ เป็นผลมาจากการแสดงออกของยีนแตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้มาดามทองอินที่มีการเปลี่ยนแปลงบริเวณเนื้อเยื่อปลายยอดในช่วงที่เจริญเปลี่ยนเป็นตาดอก มีทั้งยีนที่แสดงออกเพิ่มขึ้น และลดลง เมื่อนำยีนที่ได้นี้ไปวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่าเกี่ยวข้องกับ transcription factors รวมทั้ง MADS-box gene (Yu and Goh, 2000) การตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่มีต่อการพัฒนาของรังไข่ก่อนและหลังการปฏิสนธิใน *Cymbidium hybridium* ด้วยเทคนิค DDRT-PCR พบว่ามี cDNA ที่ได้ 3 โคลน เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลใน NCBI เป็นยีนที่คล้ายกับยีน ABC-type transporter GTPase และ 40s ribosomal S3 proteins (RPS3) นำยีนที่ได้นี้มาตรวจสอบการแสดงออกอีกครั้งหนึ่งด้วย northern analysis พบว่า RPS3 มีการแสดงออกมากเมื่อเกิดการปฏิสนธิ (Chen *et al.*, 2007) แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีนขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของพืชที่เกิดขึ้น อีกทั้งยังมีการการนำเทคนิค DDRT-PCR ช่วยคัดเลือกต้นเพศผู้และต้นเพศเมียใน *Piper longum* ในระยะต้นอ่อน พบว่าเกิดแถบของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 48 แถบ อยู่ในกลุ่มของเพศเมีย 32 แถบ ส่วนในกลุ่มเพศผู้พบ 16 แถบที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Manoj *et al*., 2008) นอกจากนี้แล้วความแตกต่างของการแสดงออกของยีน อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของบัวชั้นที่มีช่อดอกพียง 1 ช่อต่อต้น จึงต้องใช้ตัวอย่างพืชจากบัวชั้นหลายต้น ซึ่งอาจมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างต้นภายในกลุ่มตัวอย่างพืชที่ศึกษา

การวิเคราะห์บัวชั้นที่ระยะใบอ่อน ระยะช่อดอกตูม ระยะช่อดอกบาน และระยะดอกจริงดอกแรกบาน พบความแตกต่างของแถบที่แสดงถึงการแสดงออกของยีนที่ต่างกันในระยะการเจริญเติบโตแต่ละระยะ ระยะการพัฒนาที่ต่างกันนั้นมีผลต่อพืชทั้งด้านกายวิภาค สัณฐาน ชีวเคมี และสรีระ ซึ่งเป็นผลของการทำงานของยีนที่แตกต่างกัน ดังเช่น การตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค DDRT-PCR ในระยะการพัฒนาผลสตรอเบอรี่ คือระยะผลสีเขียว ระยะผลเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาว ระยะผลสีแดง 1 ใน 4 ของผล และระยะผลสีแดง พบยีนมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในผลสุกของสตรอเบอรี่ 5 ยีน เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนเหล่านี้ในใบ ราก และก้านใบ ร่วมกับระยะการพัฒนาของผลสตรอเบอรี่ พบว่ามีเพียง 3 ยีนเท่านั้นที่แสดงออกอย่างชัดเจนในขณะที่ผลสตรอเบอรี่พัฒนาไปจนเกิดกระบวนการสุก แต่ไม่พบการแสดงออกของยีนนี้ในระยะ การพัฒนาต้นและใบ (Wilkinson *et al*., 1995) การศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการพัฒนาดอกใน *Calanthe discolor* และ *C. sieboldii* พบยีนที่แสดงออกต่างกัน 66 ยีน เป็น *C. discolor* 26 ยีน และ *C. sieboldii* 40 ยีน ซึ่งการแสดงออกของยีนที่เกิดขึ้นนี้อาจเกี่ยวข้องกับ metabolic pathways และ hormonal signaling ที่แตกต่างกัน (Park *et al.,* 2010)

รูปแบบการแสดงออกของยีนระหว่างบัวชั้นทั้ง 2 กลุ่ม คือบัวชั้นกลุ่มที่มีใบประดับสีชมพูมากกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก และบัวชั้นกลุ่มที่มีใบประดับสีชมพูน้อยกว่า 1 ใน 3 ของช่อดอก โดยพิจารณาแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในทุกส่วนและทุกระยะการเจริญเติบโต พบแถบที่มีการแสดงออกเฉพาะกลุ่ม ซึ่งแถบเหล่านี้ยังต้องมีการตรวจสอบเพิ่มเติมเพื่อยืนยันว่าเป็นแถบที่เกี่ยวข้องกับความแตกต่างของสัดส่วนสีของช่อดอก ในการศึกษา *Pharbitis nil* ที่มีสีต่างกันคือ มีสีม่วง และสีขาว โดยใช้เทคนิค DDRT-PCR พบว่าการแสดงออกของยีนต่างกัน คือในดอกสีม่วงมียีนแสดงออก 19 ยีน และดอกสีขาวมียีนแสดงออก 16 ยีน เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับเบสพบว่ายีนที่ 19 ในดอกสีขาวเป็นยีนที่เหมือนกับยีน 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A ของ *Solanum tuberosum* (Kim *et al*., 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**การเพิ่มปริมาณผลผลิต PCR (reamplification of PCR fragment) และการวิเคราะห์ลำดับเบส**

หลังจากคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่น่าสนใจและมีความแตกต่างระหว่างบัวชั้นทั้ง 2 กลุ่ม เพื่อเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR พบแถบดีเอ็นเอเพิ่มเติมจากขนาด 794 และ 591 bp อาจเนื่องมาจากการใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งมีขนาดเล็กทำให้มีความจำเพาะต่อดีเอ็นเอเป้าหมายต่ำ อาจทำปฏิกิริยาได้หลายตำแหน่ง ซึ่งการที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้เป็นแถบเดียวนี้ส่งผลต่อการวิเคราะห์ลำดับเบสภายหลัง

การนำลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์โดย forward primer และ reverse primer มาทำ alignment เพื่อยืนยันความถูกต้องของการวิเคราะห์ลำดับเบสพบว่า ค่าความเหมือนกันที่เกิดขึ้น (identity) มีค่าต่ำ อาจเนื่องมาจาก เอนไซม์ *Taq* DNA polymerase ไม่สามารถตรวจสอบความถูกต้องของสายดีเอ็นเอที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ได้ ทำให้อัตราการสังเคราะห์ผิดพลาดค่อนข้างสูง (สุรินทร์, 2552) นอกจากนี้แล้วผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ที่เกิดขึ้นหลายแถบ อาจรบกวนการวิเคราะห์ ทำให้เมื่อนำข้อมูลของลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกันระหว่างลำดับเบสที่เกิดขึ้นในใบประดับส่วนล่างไม่ตรงกันภายในกลุ่ม ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการ cloning (Sturtevant, 2000) เนื่องจากจะช่วยให้การเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอที่มียีนที่ต้องการให้มีปริมาณมากขึ้น (ประดิษฐ์, 2550) และจากผลของความแปรปรวนในการวิเคราะห์เมื่อนำลำดับเบสที่มีค่า identity สูงที่สุดเปรียบเทียบลำดับเบสบนฐานข้อมูลใน NCBI ผลที่ได้มีความเหมือนกับลำดับเบสที่ได้ใน *Homo sapiens* ซึ่งไม่ระบุหน้าที่ของยีนไว้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved