รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

2. **โครงการวิจัย** : การค้นหาและศึกษาหน้าที่ของยีนที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

   กิจกรรม : -

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาการแสดงออกของกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำในระดับอาร์เอ็นเอในข้าวโพดพันธุ์ทนแล้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Difference gene expression study in response to drought stress at the RNA levels in the economically important drought tolerance Maize variety.

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นายพยุงศักดิ์ รวยอารี

   ผู้ร่วมงาน : นางสาวอรุโณทัย ซาววา

   : นางสุภาวดี ง้อเหรียญ

   : นางหทัยรัตน์ อุไรรงค์

   สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ : ทำการศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนทนแล้งชนิดต่างๆ ในข้าวโพดทนแล้งพันธุ์นครสวรรค์ 3 โดยวิธีการวิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอของข้าวโพดอายุ 2 สัปดาห์ ในระยะขาดน้ำที่ 24 ชั่วโมง (treated) เทียบกับข้าวโพดที่ให้น้ำปกติ โดยวิธีการ semi-quantitative PCR (semi-qPCR) จากการออกแบบไพรเมอร์ยีนทนแล้งชนิดต่างๆ (gene specific primers) เทียบกับไพรเมอร์ยีนควบคุม (reference genes หรือ internal control primers) ผลการศึกษาได้เพิ่มจำนวนยีนทนแล้งจำนวน 6 ชนิดยีน จากปฏิกิริยา PCR ได้แก่ ยีน cystatin, DREB4, dehydrin, DR4, extension และ rip5 และ อีก 4 ชนิดยีนไพรเมอร์ควบคุม ได้แก่ actin, beta-tubulin, elongation factor และ 18s-rRNA (18 small subunit ribosomal

nucleic acid) ผลการทดลอง พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏให้ขนาดที่แตกต่างกันและใช้เป็นตัวบ่งบอกระดับการแสดงออกของยีนทนแล้งชนิดนั้นๆในเบื้องต้นของข้าวโพดในระยะขาดน้ำและให้น้ำปกติเมื่อเทียบกับระดับการแสดงออกของยีนโดยใช้ไพรเมอร์ควบคุม ข้อมูลที่ได้อาจเป็นประโยชน์ต่อการนำยีนที่ได้จากการศึกษามาใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนทนแล้งในระยะขาดน้ำในเชิงลึกต่อไป

คำนำ : พืชมีการปรับตัวทางสรีระวิทยาให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เพื่อให้ตัวมันเองมีความอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมนั้นๆ เช่น ขาดน้ำหรือแห้งแล้ง เป็นต้น การปรับตัวของพืชให้มีการพัฒนาหรือให้เป็นไปตามปกติหรือคงทนอยู่ในสภาวะแวดล้อมดังกล่าวนั้น ต้องมีการแสดงออกของยีนบางชนิด ซึ่งอาจเป็นยีนเดียวหรือกลุ่มยีนส์ (ยีนหลายๆ ชนิดแสดงออกพร้อมกันในสภาวะเดียวกัน) จึงจะทำให้พืชมีการดำรงอยู่ในสภาวะนั้นๆ ได้หรือเกิดความเสียหายน้อยที่สุด ที่ผ่านมานักวิจัยได้ศึกษาหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกในพืช เพื่อให้พืชเกิดการปรับตัวให้คงทนอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี ในปัจจุบันข้อมูลยีนหรือกลุ่มยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกในสภาวะขาดน้ำหรือแห้งแล้งที่ได้จากค้นคว้าวิจัยมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้การนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลักษณะทนแล้งโดยอาศัยวิธีการเทคโนโลยีชีวภาพนั้นมีความเป็นไปได้มากขึ้น อีกทั้ง จากการศึกษาที่ผ่านมา พบข้อมูลที่แสดงให้เห็นชัดแล้วว่า อุณหภูมิของโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกๆปี และพบว่าพืชมีการแสดงออกของยีนที่จำเพาะบางชนิด เพื่อที่จะตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเช่นขาดน้ำหรือแห้งแล้งได้

ในประเทศไทย ข้าวโพดนับเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอย่างมากและพบข้าวโพดพันธุ์ทนแล้งในประเทศอีกด้วย นับเป็นฐานพันธุกรรมในเชิงวิจัยได้เป็นอย่างดี รวมทั้งข้าวโพดเป็นพืชที่มีประโยชน์ทั้งด้านบริโภคและด้านงานวิจัย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นนำเสนอการค้นหายีนหรือกลุ่มยีนส์ที่ได้มีการศึกษาค้นคว้ามาแล้วในพืชชนิดต่างๆ ในระดับอาร์เอ็นเอ แล้วนำยีนนั้นๆ มาศึกษากับข้าวโพดพันธุ์ทนแล้งในประเทศไทยว่าข้อมูลที่ได้มีความสอดคล้องหรือแตกต่างกันหรือไม่ โดยอาศัยวิธีการที่เรียกว่า Semi-quantitative RT-PCR (semi-qPCR) จากการสร้างสาย cDNA จาก Total RNA ที่สกัดได้จากใบข้าวโพดที่ระยะขาดน้ำต่างๆ และศึกษาการแสดงออกของยีนโดยใช้ไพรเมอร์ยีนทนแล้งที่ออกแบบจากพืชชนิดต่างๆ มาเป็นตัวค้นหาปริมาณการแสดงออกของยีนเทียบกับยีนควบคุม (Reference genes) ทำให้งานวิจัยนี้ สามารถให้ข้อมูลในรูปแบบแผนยีนที่แสดงออกในสภาวะขาดน้ำเทียบกับสภาวะให้น้ำปกติ เพื่อเป็นงานวิจัยพื้นฐานที่นำไปสู่การต่อยอดที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรของประเทศไทยได้

5. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์ - ระบุอุปกรณ์ที่สำคัญ เช่น เครื่องมือ พันธุ์ สารเคมี ปุ๋ย ฯลฯ

1. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 (NSW3) (ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ , กรมวิชาการเกษตร)
2. ถุงพลาสติกสีดำขนาด 10" x 10" x 10" (กว้าง x ยาว x ลึก)
3. ดินและปุ๋ยตราลำดวน
4. ไนโตรเจนเหลวและโกร่งสำหรับบดตัวอย่างใบข้าวโพดตัวอย่าง
5. เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge; Labnet/Spectrafuge16M, National, USA)
6. เครื่องดูดสารปริมาณน้อย (ไมโครไปเปต) ขนาด 10, 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
7. อ่างน้ำปรับอุณหภูมิอัตโนมัติ 65°C
8. ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4°C (LAWCHAIN, ยี่ห้อ CHILLED รุ่น PT-30 Series)
9. ตู้แช่แข็ง -20°C (Puffer Hubbard)
10. ตู้แช่แข็ง -80°C (SANYO ULTRA LOW, USA)
11. Trizol® Reagent (Invitrogen, USA)
12. ImProm-II™ Reverse Transcriptase (Promega, Madision, USA)
13. Agarose gel
14. ไพรเมอร์ยีนชนิดต่างๆ
15. 10x TAE Buffer
16. GelStar Solution (LONZA, Rockland, ME, USA)
17. เครื่องเพิ่มปริมาณ DNA (Gene Amp PCR system 9700 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)
18. เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าแนวนอน พร้อม Power supply
19. เครื่องส่องดูแถบสารพันธุกรรมภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) GelDoc Transluminator (BIORAD, USA)
20. ชุดถ่ายภาพพร้อมเครื่องมือวิเคราะห์สารพันธุกรรม (GELDOC BIORAD, USA)
21. ช้อนตักสาร กระดาษชั่งสารและเครื่องชั่งสาร

- วิธีการ

1. ออกแบบไพรเมอร์ในส่วนของยีนที่ตอบสนองต่อสภาพขาดน้ำ
2. เพาะเมล็ดข้าวโพดในถุงพลาสติกดำและงดให้น้ำเมื่อพืชมีอายุ 14 วัน (treated) ส่วนการทดลองควบคุมให้น้ำตามปกติ (untreated หรือ control experiment)
3. สกัดสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอรวม (Total ribonucleic acid – Total RNA) จากใบข้าวโพดที่ปลูกไว้ในขั้นตอนที่ 2 หลังงดให้น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. ทำปฏิกิริยา Reverse-transcriptase PCR เพื่อแปลง RNA เป็นซีดีเอ็นเอสายแรก (First-strand complementary DNA – First-strand cDNA , ซีดีเอ็นเอสายแรก)
5. ตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำที่กำหนดโดยใช้ cDNA สายแรกจากใบข้าวโพดเป็นเทมเพลท และใช้ไพรเมอร์ชนิดต่างๆในการทำปฏิกิริยา PCR (ตารางที่ 1)
6. นำผลิตผล PCR ที่ได้มาวิเคราะห์ผ่านอะกาโลสเจล (Agarose gel electrophoresis)
7. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล

- เวลาและสถานที่ - ระบุเวลา (ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556) และสถานที่ทำการทดลอง (สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร)

6. ผลการทดลองและวิจารณ์ (เป็นส่วนสำคัญของการทำงานวิจัย)

- อธิบายผลการทดลองที่สำคัญ อ้างอิงถึงตาราง กราฟ หรือรูปประกอบพร้อมเหตุผลสนับสนุนการทดลอง และวิจารณ์เหตุผลที่ทำให้ผลการทดลองเป็นเช่นนั้น รวมทั้งอ้างถึงผลการทดลองของผู้อื่น (จากเอกสารอ้างอิงในคำนำ หรืออุปกรณ์และวิธีการ) เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านผลการทดลองนั้นๆ

ตารางที่ 1 ชนิดของยีนและขนาดดีเอ็นเอ ที่ปรากฏในปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ดีเอ็นเอข้าวโพดเป็นเทมเพลท และโคลนลงในพลาสมิดดีเอ็นเอ (ไม่ได้แสดงคู่ไพรเมอร์และสภาพการทำปฏิกิริยาต่างๆ)

ลำดับที่	ชนิดของยีน	ขนาดของยีน (bp)
1	Cystatin	200
2	Abre	200
3	(Rip5) extensin	200
4	Dreb	720
5	Dehydrin	200-400
6	Dr4	500
7	ABA	200
8	Control (no DNA template)	-

ตารางที่ 2 แสดงชนิดยีน (internal control genes) จำนวนรอบPCR และขนาดของแต่ละชนิดยีนที่ปรากฏ

Primer	Sample	จำนวนรอบ					
		40	38	36	34	33	30
Mac F1R1	Control	-	-	-	-	600 bp	600 bp
	New	-	-	-	-	600 bp	600 bp
Mac F2R2	Control	-	400 bp	-	-	400 bp	400 bp
	New	400 bp	400 bp	-	400 bp	400 bp	400 bp
Mac F3R3	Control	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp
	New	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp	400 bp
Mac F4R4	Control	-	-	-	-	500 bp	-
	New	-	-	-	-	500 bp	-
Mac F5R5	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
Btub F1R1	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
Btub F2R2	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
Btub F3R3	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	500 bp	-
Btub F4R4	Control	-	500 bp	500 bp	500 bp	500 bp	500 bp
	New	-	500 bp	500 bp	500 bp	500 bp	500 bp
Btub F5R5	Control	300 bp	300 bp	300 bp	300 bp	300 bp	300 bp
	New	-	300 bp	300 bp	300 bp	300 bp	-
EF1 F1R1	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
EF1 F2R2	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
EF1 F3R3	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
Actin 5'-3'	Control	-	-	-	-	-	-
	New	-	-	-	-	-	-
18s sense-anti	Control	200 bp	200 bp	200 bp	-	200 bp	-
	New	200 bp	-	200 bp	-	-	-

ตารางที่ 3 แสดงผลการนำลำดับเบสของผลิตผล PCR ที่ได้มาเทียบกับฐานข้อมูลชีวภาพสากล

Sequence Search Results

Records **1** through **8** of a total **8** reference records matching the term **dreb**. This search took **0.0255** seconds.

PLN AB218832 (109119912): Zea mays ZmDREB2A mRNA for ERF/AP2 domain containing transcription factor, complete cds.
PLN AB218833 (109119914): Zea mays ZmDREB2A pseudogene mRNA.
PLN AF448789 (25990950): Zea mays DREB-like protein (dreb1) mRNA, complete cds.
PLN AF450481 (25991253): Zea mays DREB-like protein (DREB1A) mRNA, complete cds.
PLN JF915834 (385717699): Zea mays dehydration responsive element binding protein 2 (DREB2) and dehydration responsive element binding protein 2 isoform b (DREB2) genes, complete cds, alternatively spliced.
PLN JF915835 (385717703): Zea mays dehydration responsive element binding protein 2 isoform c (DREB2) mRNA, complete cds, alternatively spliced.
PLN JF915836 (385717705): Zea mays dehydration responsive element binding protein 2 isoform a (DREB2) mRNA, complete cds, alternatively spliced.
PLN JF915837 (385717707): Zea mays dehydration responsive element binding protein 2 isoform b (DREB2) mRNA, complete cds, alternatively spliced.

รูปที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน DREB ที่โคลนได้กับยีน DREB (dreb1) ที่ปรากฏอยู่ในฐานข้อมูลชีวภาพสากล

Zea mays DREB-like protein (dreb1), mRNA

Sequence ID: ref|NM_001111611.1| **Length:** 1388 **Number of Matches:** 1

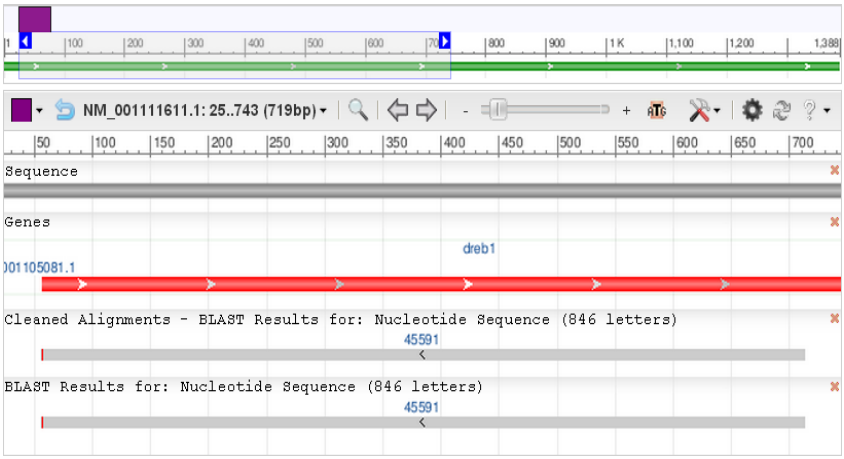
▶ See 1 more title(s)

Range 1: 57 to 710 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previou

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1175 bits(1302)	0.0	653/654(99%)	0/654(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    ATTGCTCAAGAGCTCCACGAAACGTCCTCTTGCTCTGCCACCACCACCTCGTCGTGCACC  60
            || ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  57   ATGGCTCAAGAGCTCCACGAAACGTCCTCTTGCTCTGCCACCACCACCTCGTCGTGCACC  116

Query  61   ACATCCTGCTGCTCGTCCACTGTCACAGACTCGTCCTCTTCGCCCCCGTCACCGGCGGCG  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  117  ACATCCTGCTGCTCGTCCACTGTCACAGACTCGTCCTCTTCGCCCCCGTCACCGGCGGCG  176

Query  121  GCCAATGCCGCGCCCGCGACACGGAAgcggcaggcgttggaggccgaggccgaggccgag  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  177  GCCAATGCCGCGCCCGCGACACGGAAGCGGCAGGCGTTGGAGGCCGAGGCCGAGGCCGAG  236

Query  181  gcgggcggtgaggaggaggaggaggaggaggaggaaggcTGTGCTGGTAATAAGGCGGCGCCG  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  237  GCGGGCGGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAAGGCTGTGCTGGTAATAAGGCGGCGCCG  296

Query  241  GCCAAGAAGCGACCGCGGGGCAGCGAGGGGAAGCACCCGACGTTCCGCGGCGTGCGGATG  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  297  GCCAAGAAGCGACCGCGGGGCAGCGAGGGGAAGCACCCGACGTTCCGCGGCGTGCGGATG  356

Query  301  CGGGCGTGGGGCAAGTGGGTGTCGGAGATCCGCGAGCCGCGCAAGAAGTCGCGCATATGG  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  357  CGGGCGTGGGGCAAGTGGGTGTCGGAGATCCGCGAGCCGCGCAAGAAGTCGCGCATATGG  416

Query  361  CTCGGCACGTTCCCCACCGCCGAGATGGCCGCGCGCGCCCACGACGTCGCGGCGCTCGCC  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  417  CTCGGCACGTTCCCCACCGCCGAGATGGCCGCGCGCGCCCACGACGTCGCGGCGCTCGCC  476

Query  421  ATCAAGGgccgcgccgcgcacctcaacttcccggacctcgccggcgcgctcccgcgcgcc  480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  477  ATCAAGGGCCGCGCCGCGCACCTCAACTTCCCGGACCTCGCCGGCGCGCTCCCGCGCGCC  536

Query  481  gcgtccgcggcgccCAAGGACGTCCAGGCAGCCGCCGCATTGGCCGCTGCGTTCACGTCG  540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  537  GCGTCCGCGGCGCCCAAGGACGTCCAGGCAGCCGCCGCATTGGCCGCTGCGTTCACGTCG  596

Query  541  CCGTCATCGGAGCCCGGCGCCGGCGCGCACGAGGAGCCCGCTGCCAAGGACGGCGCCGCG  600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  597  CCGTCATCGGAGCCCGGCGCCGGCGCGCACGAGGAGCCCGCTGCCAAGGACGGCGCCGCG  656

Query  601  CCCGAGGAGGCAGCCGCCGACGCACAGGCACCAGTACCAGTAGCACTACCACCG  654
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  657  CCCGAGGAGGCAGCCGCCGACGCACAGGCACCAGTACCAGTAGCACTACCACCG  710
```

รูปที่ 2 แสดง conserved domain (ส่วนที่มีความเหมือนแสดงความเป็นอนุรักษ์ของยีน) ของยีน DREB ที่โคลนได้กับยีน DREB ในฐานข้อมูลชีวภาพสากล



7. **สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ** : ได้ออกแบบไพรเมอร์ยีนทนแล้งเพื่อใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซี-อาร์ (PCR) การทดลองนี้เป็นการทดลองหาระดับการแสดงออกของยีน (ที่ได้จากการออกแบบไพรเมอร์ยีนที่ต้องการ) ในเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative PCR) เทียบกับการแสดงของยีนที่แสดงออกตลอดเวลาในเซลล์ (housekeeping genes) หรือยีนมาตรฐาน (internal control หรือ standard control) เป็นตัวเปรียบเทียบระดับการแสดงของยีน ตามความเข้ม (intensity) ของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละชนิดยีน โดยวิธีการนี้เป็นที่ยอมรับและมีการเผยแพร่ในระดับสากล อย่างไรก็ตามวิธีการนี้เป็นเพียงการประมาณค่าการแสดงออกเท่านั้น ในปัจจุบันมีเทคนิคที่เรียกว่า Realtime PCR ที่สามารถวัดหาค่าการแสดงออกของยีนในขณะทำปฏิกิริยาแบบ Realtime ต่อไป โดยค่าการแสดงออกของยีนจะปรากฏในรูปกราฟและบ่งบอกระดับการแสดงของยีนเทียบกับระดับการแสดงของยีนควบคุม (internal control) ซึ่งสามารถวางแผนกระทำได้ต่อไปในอนาคต และนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกัน เพื่อศึกษายีนที่คาดว่าตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำของประเทศ

8. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : ผลงานที่สิ้นสุดสามารถนำไปประโยชน์ ได้ดังต่อไปนี้

1. เป็นผลงานทางวิชาการ
2. ตีพิมพ์เผยแพร่ทางวิชาการได้
3. ยืนยันผลการทดลองอื่นๆ ได้

1. **คำขอบคุณ (ถ้ามี)** : ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 เพื่อใช้ในการวิจัยในครั้งนี้

2. **เอกสารอ้างอิง** :

Dombrowski, J.E., and Martin, R.C. 2009. Evaluation of reference genes for quantitative RT-PCR in *Lorium temurentum* under abiotic stress. Plant Science. 176:390-396.

Ferre, F. 1992. Quantitative or semi-quantitative PCR: Reality versus myth. *PCR Methods Applic*. 2, 1-9.

Gause, W.C., and Admovicz, J. 1995. Use of PCR to quantitate relative differences in gene expression. *PCR PRIMER*, 293-311.

Peter S. Solomon, Simon, V.S., Ipcho, James, K. Hane, Kar-chun Tan, Richard P. Oliver. A quantitative PCR approach to determine gene copy number. 2008. Fungal Genetics Reports. 5- 8.

Raeymaekers, L. 1995. A complementary on the practical applications of competitive PCR. *PCR Methods Applic*, 5 91-94.

Thellin, O., Zorzi, W., Lakaye, B., De Borman, B., Coumans, B., Hennen, G., Grisar, T., Igout, A., Heinen, E. 1999. Housekeeping genes as internal standards: use and limits. J. Biotechnol. 75: 291-295.

3. **ภาคผนวก** **:** เป็นส่วนที่ให้รายละเอียดเพิ่มเติม ซึ่งไม่จำเป็นต้องแสดงไว้ในเนื้อหาของรายงาน เช่น สูตร วิธีคำนวณ ตารางการบันทึกข้อมูลภาพ แสดงเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย แบบสำรวจข้อมูล เป็นต้น ส่วนนี้จะมีหรือไม่มีก็ไม่ทำให้เนื้อหาของรายงานขาดความสมบูรณ์

หมายเหตุ

รูปแบบ :

- หัวเรื่องข้อ 1-13 : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวหนา
- เนื้อหา : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวธรรมดา
- Page Set up : ด้านบน 2.5 ซม. ด้านซ้าย 2.5 ซม. ด้านขวา 2 ซม. ด้านล่าง 2.5 ซม.
- ขนาด A4 โดยใช้ Program Microsoft Word

* ให้แนบไฟล์รูปภาพประกอบด้วย เพื่อนำไปจัดทำรูปเล่มต่อไป

* จัดส่งข้อมูลไปยังกลุ่มติดตามและประเมินผล กองแผนงานและวิชาการในรูปเอกสารหรือส่งข้อมูลทาง Email Address : nonglux.k@doa.in.th