

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ปริมาณและคุณภาพ DNA ที่เหมาะสมของพยาธิใบไม้บางชนิด
เพื่อใช้ในเทคนิคเอชเอที-อาร์เอพีดี

ผู้เขียน นางสาวอัจฉรี รามสุข

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ชโลบล วงศ์สวัสดิ์	ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย	กรรมการ
	ผศ. พิระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์	กรรมการ

บทคัดย่อ

การตรวจหาปริมาณและคุณภาพ DNA ที่เหมาะสมของพยาธิใบไม้ 3 ชนิด *Haplorchis taichui*, *Opisthorchis viverrini* และ *Paramphitomum epiclitum* ที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยวิธี Optical method ด้วย spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm ใน 3 ระยะพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ DNA ของพยาธิใบไม้ 3 ชนิด ระยะตัวเต็มวัย 97.22 ng 3,167.00 ng และ 21,382.66 ng ตามลำดับ ระยะเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ขนาดเล็ก *H. taichui* 50.70 ng และระยะไข่ของพยาธิใบไม้ทั้ง 3 ชนิด 3.92 ng 3.72 ng และ 17.53 ng ตามลำดับ การใช้เทคนิค High Annealing Temperature- Random Polymorphic DNA (HAT-RAPD) เพื่อตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ DNA ที่เหมาะสมของพยาธิใบไม้ที่มีขนาดแตกต่างกัน 3 ชนิด โดยใช้ genomic DNA ซึ่งได้เจือจางความเข้มข้นของ DNA ลดลง 10 เท่า ตามลำดับ คือตั้งแต่ 1 ng ถึง 1×10^{-12} ng โดยนำ DNA แต่ละความเข้มข้นไปใช้ในกระบวนการเพิ่มปริมาณ (PCR) โดย arbitrary primer (OPA-09)พบว่า DNA ของพยาธิใบไม้ 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นในช่วง 1 ng ถึง 1×10^{-6} ng เหมาะสมสำหรับที่จะนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์หลายพิมพ์ DNA ส่วนความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ได้โดยวิธี PCR คือช่วง 1×10^{-8} ng ถึง 1×10^{-12} ส่วนจำนวนตัวอย่างพยาธิทั้ง 3 ชนิด ที่เพียงพอสำหรับนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี PCR คือระยะตัวเต็มวัย 1 ตัว ระยะเมตาเซอคาเรีย จำนวน 1 เมตาเซอคาเรีย และระยะไข่พยาธิใช้เพียง 1 ฟองเช่นกัน

Thesis Title	Optimal Quantity and Quality of DNA of Some Trematodes for Using in HAT-RAPD Technique		
Author	Miss Archaree Ruamsuk		
Degree	Master of Science (Biology)		
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Chalobol Wongsawad		Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai		Member
	Asst. Prof. Pheravut Wongsawad		Member

Abstract

The investigation of the optimal quality and quantity in three trematodes species including the small size *Haplorchis taichui*, the medium size *Opisthorchis viverrini* and the large size *Paramphistomum epiclitum* using optical method (spectrophotometer at 260 nm) in 3 stages; adult, metacercaria and egg the result showed as follows; the average DNA quantity of adults 97.22 ng, 3,167.00 ng and 21,382.66 ng respectively; metacercaria of *H. taichui* was 50.70 ng and eggs stage 3.92 ng, 3.72 ng and 17.53 ng respectively. The High Annealing Temperature-Random Polymorphic DNA (HAT-RAPD) technique was used for detect optimal DNA quality and quantity of DNA from different size trematodes. Genomic DNA was ten fold serials diluted into various concentrations from 1 ng to 1×10^{-12} ng each dilution was used for amplify by using 1 random primer (OPA-09). The result showed that the range of 1 ng to 1×10^{-6} ng can used for DNA fingerprint analysis. While the range of 1×10^{-8} ng - 1×10^{-12} ng can used for DNA amplification using PCR method. Otherwise, the amounts of DNA of all trematodes species from 1 adult, 1 metacercaria and 1 egg were amount for the DNA amplification using PCR method.