

สุบิน หินจันทร์ 2553: การถ่ายยีน antisense LIM เข้าสู่ ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร
โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสริมศิริ จันทร์เปรม, Ph.D. 120 หน้า

LIM เป็นโปรตีนที่ควบคุมการถอดรหัสของยีนในกระบวนการสังเคราะห์ลิกนิน โดยเข้าไปจับในส่วนของโปรโมเตอร์ PAL Box Domain บางส่วนของยีน LIM ได้โคลนจากยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส และถ่ายยีนแบบ antisense เข้าสู่ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส สายพันธุ์เพื่อตรวจสอบหน้าที่ของยีน โดยเชื่อมต่อยีนแบบ antisense กับพลาสมิด pCAMBIA1301 และถ่ายเข้าสู่ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 เพื่อใช้เป็นพาหะในการถ่ายยีนเข้าสู่ยูคาลิปตัส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยูคาลิปตัสที่คาดว่าจะได้รับการถ่ายยีนถูกคัดเลือกจากความทนทานต่อสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซิน การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ และ Southern blot hybridization

ยูคาลิปตัสที่ได้รับการถ่ายยีนจำนวน 8 สายต้นได้ถูกนำไปปลูกทดสอบในโรงเรือนชีวนิรภัย โดยอัตราการรอดตายของกล้าไม้หลังการย้ายชำสูงกว่า และมีการเจริญเติบโตทั้งความสูงและเส้นผ่านศูนย์กลางดีกว่ายูคาลิปตัสปกติที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน การแสดงออกของยีน LIM และยีนอื่น ๆ ที่ควบคุมการสังเคราะห์ลิกนินได้ถูกตรวจวัดโดยใช้เทคนิค real time PCR การแสดงออกของยีน LIM C3H และ C4H ลดลง โดยการแสดงออกของยีน LIM ลดลงร้อยละ 99.8 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นยูคาลิปตัสปกติ ส่วนการแสดงออกของยีน PAL, CCR และ CAD มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในต้นที่ได้รับการถ่ายยีน ปริมาณสารที่แยกสกัดได้ด้วยน้ำร้อนในเนื้อไม้ยูคาลิปตัสอายุหนึ่งปีมีปริมาณลดลงในยูคาลิปตัสที่ได้รับการถ่ายยีน ส่วนปริมาณเพนโตซานและความหนาแน่นของเนื้อไม้สูงกว่าปกติ ยูคาลิปตัสบางสายต้นมีผนังเซลล์หนากว่าปกติ ยีน LIM น่าจะเป็น transcription factor ที่ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ลิกนิน และนอกจากนั้นยีน LIM ยังน่าจะเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารที่สกัดได้ด้วยน้ำร้อน เพนโตซาน และการสร้างผนังเซลล์ในยูคาลิปตัส