

ภาววรรณ วังคำไพร 2555 : การแสดงออกของยีนพีนินซินเทสของมะกรูดในอะราบิโดป
ซิสและกล้วยไม้พันธุ์เอื้องเงินหลวง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม)
สาขาพันธุวิศวกรรม โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พัฒนา ศรีฟ้า สุนเนอร์, Ph.D. 87 หน้า

เบต้า-พีนินจัดเป็นสารโมโนเทอร์ปีนองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้
จากผิวของมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) การศึกษาในครั้งนี้นำยีนพีนินซินเทส ที่แยกได้จากมะกรูด
มาตัดต่อเข้าเวกเตอร์ที่แสดงออกในพืช (pCAMBIA1305.1) เพื่อการถ่ายเข้าสู่อะราบิโดปซิสและ
กล้วยไม้พันธุ์เอื้องเงินหลวง หลังจากการทดสอบระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮโกรมยซิน
ในอะราบิโดปซิสแปลงพันธุ์ยีนพีนินซินเทสที่ถูกสร้างขึ้นโดยการถ่ายยีนด้วยอะโกรแบคทีเรียสาย
พันธุ์ EHA105 และถูกคัดเลือกบนอาหาร 1/2MS ที่มีไฮโกรไมซิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน
10 วัน แล้วจัดเก็บเมล็ดจากอะราบิโดปซิสแปลงพันธุ์แต่ละต้นที่ผ่านการคัดเลือกโดยลักษณะความ
ต้านทานต่อไฮโกรมยซินในรุ่นที่ 1 – 6 (T0–T5) หลังจากผ่านการคัดเลือก เปรอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
ของเมล็ดอะราบิโดปซิสในรุ่น T0, T1, T2, T3, T4 และ T5 เพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 0.27, 45.17, 70.65,
78.88, 80.00 และ 83.33 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ายีนพีนินซินเทสของมะกรูดประสบ
ความสำเร็จในการแทรกตัวเข้าสู่โครโมโซมของอะราบิโดปซิสแปลงพันธุ์ทุกต้นเมื่อตรวจสอบด้วย
วิธีพีซีอาร์ แต่เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี GC–MS พบว่าไม่สามารถตรวจพบสารหอมระเหยที่ปล่อย
ออกมาจากดอกอะราบิโดปซิสแปลงพันธุ์หลังจากปล่อยให้เกิดการสะสมนาน 3 ชั่วโมง

ยีนพีนินซินเทสของมะกรูดถูกถ่ายเข้าโปรโตคอร์มกล้วยไม้พันธุ์เอื้องเงินหลวงด้วยอะโกร
แบคทีเรีย หลังจากการคัดเลือกบนอาหาร MS ที่มีไฮโกรไมซินและซีโฟแทกซิม นาน 12 สัปดาห์
พบอัตราการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มที่ได้รับยีนพีนินซินเทส คิดเป็นร้อยละ 1.34 และตรวจพบการ
แทรกตัวของยีนเข้าสู่โครโมโซมของต้นอ่อนกล้วยไม้เมื่อตรวจสอบด้วยวิธีพีซีอาร์