

ปวรรัตน์ ปฏิพัฒน์ 2557: การโคลนยีน *Arsenate reductase* และ *Phytochelatin synthase* ที่ตอบสนองต่อสารหนูในข้าวขาวดอกมะลิ 105 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พัฒนา ศรีฟ้า สุนเนอร์, Ph.D. 99 หน้า

การสะสมสารหนู (arsenic, As) ในพืชเป็นปริมาณสูงจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นเมื่อพืชได้รับสารหนูเข้าทางเซลล์ราก จึงเกิดกลไกการลดความเป็นพิษของสารหนูที่เข้าสู่เซลล์พืชด้วยเอนไซม์หลัก คือ *arsenate reductase* (AR) และ *phytochelatin synthase* (PCS) งานวิจัยนี้ได้โคลนยีนสองชนิดที่เกี่ยวข้องกับกลไกดังกล่าวจากรากของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับสารหนู โดยพบว่ายีน *arsenate reductase* ที่โคลนได้ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 414 คู่เบส กำหนดการสร้างสายโพลีเปปไทด์ 137 เรสซิดิวส์ ที่ประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนส่วนอนุรักษ์ HisCys(X)₃Arg ซึ่งมีหน้าที่สำคัญต่อปฏิกิริยารีดักเทส และพบว่ามี ความคล้ายกับ *arsenate reductase* ที่ได้จากข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud.) นอกจากนี้ ยังประสบความสำเร็จในการโคลนบางส่วนของยีน *phytochelatin synthase* ขนาด 1,251 คู่เบส ที่กำหนดการสร้างสายโพลีเปปไทด์ที่มีความยาวกรดอะมิโน 416 เรสซิดิวส์ ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ *phytochelatin synthase* จากข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ทั้งยังพบกรดอะมิโนส่วนอนุรักษ์ CysCys(X)₃Cys(X)₂Cys บริเวณปลาย C-terminal ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการจับกับโลหะหนักและสารหนู การศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *arsenate reductase* และ *phytochelatin synthase* ด้วยเทคนิค quantitative real-time PCR ในรากของข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเจ้า (พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ ไรซ์เบอร์รี่) และ ข้าวเหนียว (พันธุ์ กข 6 และ หางยี 71) พบว่า โดยปกติ การแสดงออกของยีน *arsenate reductase* และ *phytochelatin synthase* พบสูงที่สุดในรากของข้าวเหนียว กข 6 และ ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม หลังจากข้าวได้รับสารหนู (50 μ M) พบว่าการแสดงออกของยีน *arsenate reductase* สูงขึ้นเป็น 2.3, 1.02 และ 0.3 เท่า ในรากข้าวขาวดอกมะลิ 105 หางยี 71 และ ไรซ์เบอร์รี่ ตามลำดับ สำหรับข้าวเหนียว กข 6 การแสดงออกของยีนเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ในขณะที่การแสดงออกของยีน *phytochelatin synthase* เพิ่มขึ้นเป็น 2.5, 1.4 และ 0.4 เท่า ในรากข้าวเจ้าไรซ์เบอร์รี่ ข้าวเหนียว กข 6 ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงในข้าวเหนียวหางยี 71