

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอื้องสกุล' ที่ได้รับไคโตซาน และไม่ได้รับไคโตซาน ด้วยวิธี differential display ไคโตซานที่ใช้ในการศึกษาวิจัยอยู่ในรูปโพลิโกเมอร์ที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีทางเอนไซม์ ซึ่งมี degree of deacetylation เป็น 80% ที่ความเข้มข้น 10 ppm จากการศึกษาก่อนการสกัด total RNA ของกล้วยไม้สกุลหวาย 'เอื้องสกุล' การปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของ extraction buffer ของ Yu และ Goh (2000) โดยการใช้สาร polyvinylpolypyrrolidone แทนการใช้สาร polyvinylpyrrolidone มีผลช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด total RNA เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในกล้วยไม้ชนิดนี้ การแยกรูปแบบการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันในใบอ่อนของต้นที่ได้รับไคโตซาน และไม่ได้รับไคโตซาน โดยใช้ oligo dT₁₁ NN ไพรเมอร์ จำนวน 8 ไพรเมอร์ ร่วมกับไพรเมอร์แบบสุ่ม จำนวน 9 ไพรเมอร์ พบว่ามี cDNA ที่แสดงความแตกต่างจำนวน 145 แถบ ซึ่งมีเพียง 19 ขึ้น cDNA ที่สามารถโคลน และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ จาก cDNA ดังกล่าวพบว่ามี cDNA จำนวน 11 ขึ้น ที่มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ และ/หรือลำดับกรดอะมิโน ที่พบในสิ่งมีชีวิตอื่น ในจำนวนนี้มี cDNA จำนวน 5 ขึ้น ที่มีความคล้ายคลึงกับจีโนมของพืชชนิดอื่น ส่วนเมื่อทำการแปลรหัส พบว่าสายโพลีเปปไทด์ที่แปลรหัสจาก cDNA ได้ จำนวน 4 สาย ที่มีความคล้ายคลึงกับสายโพลีเปปไทด์ของแบคทีเรีย และอีก 6 สายมีความคล้ายคลึงกับสายโพลีเปปไทด์ที่พบในพืช จากผลการเปรียบเทียบการแสดงออกของชิ้นส่วน cDNA หมายเลข De362 และ De7696 (ซึ่งเหมือนกับ De164) ในใบอ่อนที่ได้รับไคโตซาน และไม่ได้รับไคโตซาน โดยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction พบว่าชิ้นส่วน cDNA หมายเลข De362 ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับ cDNA ที่พบในเนื้อเยื่อเจริญของข้าวฟ่าง และชิ้นส่วน cDNA หมายเลข De7696 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกับยีน Ycf2 ในคลอโรพลาสต์จีโนม มีการแสดงออกลดลงหลังจากได้รับไคโตซาน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากข้อมูลข้างต้นทำให้ทราบว่าไคโตซานมีผลต่อการแสดงออกของยีนในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นรายงานชิ้นแรก ในขณะที่รายงานส่วนใหญ่พบผลของไคโตซานที่มีต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารป้องกันตนเองของพืช

Gene expression of chitosan-treated and untreated *Dendrobium* 'EISKUL' was compared by differential display method. The enzymatically prepared oligomer form of chitosan with 80% degree of deacetylation at 10 ppm was used in this research. The substitution of polyvinylpolypyrrolidone to polyvinylpyrrolidone in RNA extraction buffer developed by Yu and Goh (2000) was found to increase the total RNA extraction efficiency of *Dendrobium* 'EISKUL'. A combination of 8 oligo dT₁₁ NN primers and 9 arbitrary primers was used to detect the different gene expression patterns in young leaves of the chitosan-treated and -untreated plants. The total of 145 different cDNA bands were detected. Nineteen putative cDNAs which showed the different pattern were cloned and sequenced. Only eleven clones showed the significant homology to other organism 's nucleotide and/or putative amino acid sequences. Five of them showed the homology to genome of other plant species. Four of the putative polypeptides, derived from the cDNA sequences were similar to those of bacteria and six of them were similar to plant polypeptide sequences. *De362* and *De7696* (also similar to *De164*), the cDNA fragments similar to cDNA found in *Sorghum* meristem, and the conserved coding sequence of *Ycf2* gene in chloroplast genome respectively, were detected for reduction of gene expression in young leaves after 24 hours of chitosan treatment, compared to the untreated control by reverse transcription-polymerase chain reaction. This was the first report on the effect of chitosan on chloroplast gene expression whereas almost all previous reports showed the effect of chitosan on the induction of plant defensive genes.