

การศึกษาการถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 โดยใช้ระบบการถ่ายยีนที่ปราศจากยีนเครื่องหมายชนิด MATVS (Multi-Auto-Transformation Vector System) เพื่อให้ได้ต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมที่ปราศจากยีนเครื่องหมาย ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 และข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ Kitaake ด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรียผสมสายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pMAT21 ซึ่งมียีน *ipt* เป็นยีนเครื่องหมาย มียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล และมียีน *lacZ* เป็นตัวแทนของยีนที่สนใจ เมื่อถ่ายยีนเข้าสู่แคลลัสของข้าว พบว่าแคลลัสข้าวพันธุ์ กข 6 และข้าวพันธุ์ Kitaake เกิดจุดสีฟ้าร้อยละ 55.88 และ 92.96 ตามลำดับ แสดงว่าแคลลัสเหล่านี้ได้รับยีน เมื่อนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารคัดเลือกพบว่าแคลลัสของข้าวพันธุ์ กข 6 และข้าวพันธุ์ Kitaake สามารถเจริญได้บนอาหารคัดเลือกร้อยละ 89.23 และ 90.52 ตามลำดับ แคลลัสที่เกิดยอตร้อยละ 16.69 และ 12.22 ตามลำดับ แสดงว่าแคลลัสได้รับยีน *ipt* ซึ่งสร้างฮอร์โมนไซโตไคนินจึงสามารถเกิดยอได้ และแคลลัสที่เกิดเป็นต้นข้าวสมบูรณ์ร้อยละ 53.33 และ 16.66 ตามลำดับ เมื่อนำต้นข้าวเหล่านี้มาทดสอบ พบว่า ต้นข้าวทั้งหมดไม่มีการแสดงออกของยีน *gusA* และเมื่อนำใบของต้นข้าวมาสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *ipt* พบว่าต้นข้าวไม่มียีน *ipt* อยู่ในจีโนม แต่เมื่อใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *lacZ* พบแถบดีเอ็นเอของยีน *lacZ* เกิดขึ้น แสดงว่าต้นข้าวได้รับยีน *lacZ* แทรกอยู่ในจีโนมของข้าว ซึ่งปราศจากยีนเครื่องหมาย *ipt* และยีนรายงานผล *gusA* นอกจากนี้ได้ศึกษาการถ่ายยีนเข้าสู่ยอดอ่อนของข้าวพันธุ์ กข 6 และข้าวพันธุ์ Kitaake พบว่าเกิดจุดสีฟ้าร้อยละ 52.36 และ 53.94 ตามลำดับ แสดงว่ายอดอ่อนเหล่านี้ได้รับยีน ซึ่งงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการถ่ายยีนด้วยระบบ MATVS ในข้าวไทยประสบความสำเร็จ

Transformation of glutinous rice cv. RD 6 using MATVS ((Multi-Auto-Transformation Vector System) was studied to produce marker-free transgenic rice. In this study, transformation of *indica* rice cv. RD 6 and *japonica* rice cv. Kitaake was performed using *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105 harboring plasmid pMAT21. This plasmid contains genes for isopentenyl transferase (*ipt*) as a selectable marker gene, β – glucuronidase (*gus*) as a reporter gene and *lacZ* gene as a gene of interest. The results showed that transformation of both rice varieties was successful. The results from GUS assay showed blue spots on RD 6 and Kitaake calli after co-cultivation about 55.88 and 92.96 percents, respectively. When the calli were cultured on selective medium, the surviving calli of RD 6 and Kitaake were obtained about 89.23 and 90.52 percents, respectively. The percentage of shoot formation from RD 6 and Kitaake calli was 16.69 and 12.22 percents, respectively. The plantlets were regenerated from RD 6 and Kitaake calli at 53.33 and 16.66 percents, respectively. All transformed RD 6 rice plants showed GUS negative. PCR analysis of the transformed RD 6 plants showed the expected amplified fragments of *lacZ* gene whereas the amplified fragments of *ipt* gene were not found. The PCR results indicated that the RD 6 transgenic rice contained *lacZ* gene inserted into their genome without the marker *ipt* gene. Shoot apex transformation of RD 6 and Kitaake using *A. tumefaciens* EHA105 (pMAT21) was studied. The shoots of RD 6 and Kitaake showed blue spots about 52.36 and 53.94 percents, respectively. Overall results indicated that marker-free transformation system of Thai rice was successful.