5.วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการโคลนและศึกษาหน้าที่ของยีน *Myc* transcription factor ที่แยกได้จากข้าวขาวดอกมะลิพันธุ์กลายสายพันธุ์ BKOS ที่ชักนำโดยเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำ โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะเข้าใจกลไกการสังเคราะห์รงควัตถุแอนโทไซยานินผ่านการทำงานของยีน *Myc* และ Transcription factor บางกลุ่ม เช่น WD40 และ Myb โดยจากงานวิจัยต่างๆ แสดงให้เห็นว่ายีน *Myc* มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของยีนโครงสร้างบางชนิดในวิถีสังเคราะห์รงควัตถุแอนโทไซยานินในพืช (Stommel *et al.*, 2009; Yamazaki *et al.*, 2003) แต่เนื่องจากกลุ่มของ *Myc* transcription factor gene เป็น Family genes ที่มีสมาชิกอยู่มากมายและทำหน้าที่หลากหลายในสิ่งมีชีวิตดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องพิสูจน์หน้าที่ของยีน *Myc* ที่โคลนได้ ซึ่งในพืชทั่วไปนั้น Myc protein จะรวมตัวกับ Myb และ WD40 เกิดเป็น protein complex ขึ้น โดยโครงสร้างดังกล่าวจะไปกระตุ้นให้เกิดการทำงานของยีนต่างๆในวิถีสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะ (Ramsary and Glover. 2005) กลุ่มของ late biosynthetic genes (LBGs) โดยโครงสร้างดังกล่าวจะจดจำและจับกับส่วน responsive elements บริเวณโปรโมเตอร์ของยีนต่างๆ

ในงานวิจัยนี้สามารถโคลนยีน *Myc* จากข้าวสายพันธุ์ BKOS โดยมีขนาด 1,353 คู่เบส และแปลงเป็นกรดอะมิโนได้ 451 อะมิโน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีนที่โคลนได้กับฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความคล้ายกับยีน R-type basic helix-loop-helix (*Plw-OSB2*) ของข้าวมากที่สุดถึง 92% โดยจากรายงานของ Sakamoto และคณะในปี 2001 พบว่า *Plw-OSB2* จะทำงานร่วมกับยีน *Pl* ซึ่งเป็นกลุ่มของ Transcription factor gene จึงจะสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างรงควัตถุแอนโทไซยานินในข้าวได้ เช่นเดียวกันกับในข้าวโพด ซึ่งโปรตีน MYC จะจับกับโปรตีน MYB เกิดเป็นโปรตีนโครงสร้างพิเศษก่อนที่โครงสร้างดังกล่าวจะไปกระตุ้นให้ยีนโครงสร้างในวิถีสังเคราะห์แอนโทไซยานินทำงานจึงทำให้ข้าวโพดสามารถสร้างรงควัตถุแอนโทไซยานินได้ (Dooner *et al.*, 1991) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้สนใจที่จะศึกษากลไกในการควบคุมการสังเคราะห์รงควัตถุแอนโทซยานินในข้าวพันธุ์กลาย โดยเบื้องต้นได้ทำการศึกษาหน้าที่ของยีน *Myc* ด้วยการส่งถ่ายเข้าสู่ต้นยาสูบและพิทูเนีย ซึ่งตรวจพบการแสดงออกของยีน *Myc* ในระดับการ transcription และกระตุ้นให้เกิดการทำงานของยีน *Chalcone synthase (CHS), anthocyanin synthase (ANS)* และ *UDP-glucose-flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT)* เพิ่มขึ้นมากกว่าพืชในกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 18) แต่เมื่อติดตามลักษณะ Phenotypes แล้วไม่พบการเปลี่ยนแปลงซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยในพืชหลายๆชนิดเช่น การศึกษาของ Cultrone และคณะในปี 2010 โดยทำการศึกษาหน้าที่ของยีน *MYC* ในส้ม พบว่า ยีน *MYC* สามารถชักนำให้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของยีน *CHS, ANS* และ *UFGT*

โดยเมื่อทำการส่งถ่ายยีน *Myc* ร่วมกับ *WD40* ที่โคลนได้จากข้าวพันธุ์กลายสายพันธุ์ BKOS สามารถชักนำให้ต้นยาสูบผลิตสารต่างๆในกลุ่มของแอนโทไซยานินได้หลากหลายเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นยาสูบปกติ (ภาพที่ 19) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสีของต้นยาสูบในส่วนต่างๆ ซึ่งอาจจะมีสาเหตุมาจากปัจจัยอื่นๆที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสีของแอนโทไซยานินในยาสูบ เช่น จากการศึกษาของ Quattrocchio และคณะในปี 2006 ได้รายงานว่า ค่าความเป็นกรดด่างในแวคคิวโอลมีอิทธิพลต่อการเกิดสีของแอนโทไซยานินในพิทูเนียโดยค่าความเป็นกรดด่างจะถูกควบคุมโดย Myb transcription factor gene โดยยีน *Myb* นี้จะทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดภายในแวคคิวโอล ซึ่งในบริเวณแวคคิวโอลของยาสูบอาจจะมีค่าความเป็นกรดด่างไม่เหมาะสมจึงทำให้ไม่ปรากฏสีของแอนโทไซยานินที่เกิดจากการชักนำของยีน *Myc* และ *WD40* ที่ส่งถ่ายเข้าไป

แต่เป็นที่น่าสนใจว่าจากการศึกษาหน้าที่การทำงานของยีน *Myc* ร่วมกับยีน *WD40* ที่โคลนได้จากข้าวพันธุ์กลายสายพันธุ์ BKOS นั้นสามารถกระตุ้นให้พืชทดลองสามารถสร้างสารสำคัญต่างๆในกลุ่มของแอนโทไซยานินที่คุณสมบัติเป็น antioxidant ขึ้นได้ เช่น cyanidin 3-glucoside และ petunidin 3-glucoside ที่มีรายงานอย่างแพร่หลายถึงคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดบางชนิดได้แก่ มะเร็งเต้านม (Xu *et al.*, 2010) มะเร็งลำไส้ (Cooke *et al.*, 2006) cyanidin 3-galactoside ยับยั้งมะเร็งปอด (Chen et al., 2006) เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้ยีนทั้งสองที่โคลนได้จากข้าวพันธุ์กลายสายพันธุ์ BKOS มาปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้สร้างสารที่มีคุณสมบัติในการต้านทานต่อมะเร็งได้ต่อไปในอนาคต