

ชื่อเรื่อง	การโคลนยีนและการศึกษาคุณสมบัติของยีนควบคุม การสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าว
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพูนศรี อินดี๊ะ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าวมียีนควบคุมที่สำคัญซึ่งเป็นรหัสของโปรตีนทรานสคริปชันแฟกเตอร์ควบคุมการแสดงออกของยีนโครงสร้างในวิถีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการโคลนยีน *OSB2* ซึ่งเป็นยีนควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินจากใบอ่อนและเมล็ดอ่อนของข้าวเมล็ดสีขาวแดง และดำ จากการศึกษาพบว่า ยีน *OSB2* สามารถโคลนได้จากข้าวพันธุ์สีดำเท่านั้นซึ่งประกอบด้วย open reading frame (ORF) ขนาด 1,356 bp มีความเหมือนกับยีน *OSB2* ที่มีรายงานในฐานข้อมูล GenBank (accession no. AB021080) ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ และ ORF ขนาด 1,101 bp ซึ่งมีบริเวณเอกซอนที่ 2 ขาดหายไป (255 คู่เบส) ผลการวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนที่ได้จากการแปลรหัสของ ORFs ขนาด 1,356 bp และ 1,101 bp พบว่าประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 451 และ 366 หน่วย ตามลำดับ ซึ่งมีความคล้ายกับลำดับกรดอะมิโนของยีน *OSB2* ในฐานข้อมูล GenBank (accession no. BAB64302) ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน แสดงว่า ยีน *OSB2* ที่โคลนได้ในงานวิจัยนี้อาจมี 2 รูปแบบ หรืออาจมียีนรูปแบบเดียวในจีโนมข้าวแต่เกิดการเลือกตัดอินทอน (alternative splicing) เมื่อศึกษาการถ่ายยีน *OSB2* เข้าสู่เซลล์ข้าวพันธุ์ Nipponbare และ Taichung 65 พบว่า เซลล์ข้าวพันธุ์ Taichung 65 มีการเจริญและเกิดจุดเขียวมากกว่าพันธุ์ Nipponbare และต้นข้าวที่ได้จากการถ่ายยีนมีลักษณะสีเขียวเหมือนกับต้น wild-type แสดงว่าจากผลการวิจัยนี้ ยีน *OSB2* จากข้าวสีดำไม่สามารถทำให้เกิดการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าวขาวได้ อาจเนื่องจากกลไกการควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมีความซับซ้อนต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของโปรตีนควบคุมหลายชนิด ดังนั้นจึงควรศึกษาการถ่ายยีน *OSB2* ร่วมกับยีนควบคุมชนิดอื่นเข้าสู่ข้าว เพื่อให้เข้าใจการทำงานของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าว และประยุกต์ใช้เป็นยีนเครื่องหมายในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยการปรับปรุงพันธุ์ระดับโมเลกุลและเทคนิคพันธุวิศวกรรมได้ในอนาคต

Title	Cloning and Characterization of a Gene Controlling Anthocyanin Biosynthesis in Rice
Author	Miss Poonsri Inta
Degree of	Master of Science in Genetics
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Chotipa Sakulsingharoj

ABSTRACT

The regulatory genes encode transcription factors that regulate expression of structural genes in anthocyanin biosynthesis pathway in rice. In this study, cloning of *OSB2* gene that controls anthocyanin biosynthesis, from young leaves and developing seeds of white, red and black rice varieties, was conducted. Results showed that *OSB2* gene could be cloned from black rice varieties only with an open reading frame (ORF) at 1,356 bp at 99 percent which was identical with *OSB2* gene reported in GenBank (accession no. AB021080) and also had *OSB2* gene containing a single ORF at 1,101 bp but with 2nd exon deleted (255 bp deletion). Results showed that analysis of deduced amino acid sequences at 1,356 and 1,101 bp ORFs showed that they consisted of 451 and 366 amino acid residues, respectively, which showed 99 % similarity to that of *OSB2* (accession no. BAB64302). Results also suggested that *OSB2* genes which were cloned in this study might have 2 forms or might have similar form as the rice genome but with alternative splicing. Transformation of the *OSB2* gene into calli of Nipponbare and Taichung 65 showed that Taichung 65 calli were able to grow and develop green spots much more than Nipponbare. Moreover, transformed rice plants had green leaves similar to the wild-type plant. This meant that, as a result of the experiment, the *OSB2* gene could not affect the anthocyanin biosynthesis in white rice variety. This might be due to the complicated regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis and which could require combined interaction of several types of protein. Thus, future study of the transformation of the cloned *OSB2* genes would be conducted together with other regulatory genes into the plant in order to understand anthocyanin biosynthesis in rice and to apply as a marker gene for the improvement of rice varieties through molecular breeding and genetic engineering in the future.