

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการสกัดดีเอ็นเอในจีโนม 3 วิธี พบว่าชุดสำเร็จรูป Genomic DNA Purification Kit (Thermo scientific) สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ปริมาณและสามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีการ mCTAB ในขณะที่ดีเอ็นเอที่สกัดด้วยชุดสกัด GF-1 (Vivantis) นั้นจะดีเอ็นเอปริมาณน้อย ซึ่งอาจจะเกิดจากการที่ใบอ่อนนั้นมีลักษณะแข็ง เหนียว ทำให้น้ำยาของชุดสกัด Genomic DNA Purification Kit (Thermo scientific) มีความเหมาะสมกับเซลล์น้อยกว่าวิธีการสกัดอื่น

การออกแบบไพรเมอร์เพื่อแยกยีน *hsf* ด้วยการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ จำนวน 16 ยีน พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนได้ โดย 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ ไพรเมอร์ของยีน ScHSF5, ScHSF6 และ ScHSF10 การที่แยกยีนได้เพียง 2 ยีน อาจจะเนื่องมาจากยอที่ใช้ในการวิจัยเป็นพันธุ์ที่ใช้ในประเทศไทย ที่อาจมีความหลากหลายหรือแตกต่างทางกับยอที่ใช้ในฐานข้อมูล ทำให้มีลำดับดีเอ็นเอแตกต่างกัน จนไพรเมอร์ที่ออกแบบไม่สามารถใช้ในการแยกยีนเหล่านั้นได้ แต่ไม่ได้เป็นการแสดงว่าไม่มียีนดังกล่าวในจีโนมของยอ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ พบว่าเป็นยีน *hsf* จำนวน 2 ยีน คือ ScHSF6 และ ScHSF10 ที่แยกได้มีจำนวนมากกว่า 1 แบบ (isoforms) ในจีโนมของยอ ซึ่งน่าจะทำให้ยอพันธุ์หนึ่งๆ มีความหลากหลายของยีน *hsf* ที่จะสามารถตอบสนองต่ออุณหภูมิได้หลากหลายไปด้วย

การโคลนยีนสามารถโคลนยีน ScHSF6 จากยอ 3 พันธุ์ จำนวน 11 โคลน จากการเปรียบเทียบพบความเหมือนในลำดับดีเอ็นเอและลำดับกรดอะมิโน คิดเป็น 97-99 เปอร์เซ็นต์ และ 95-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถโคลนยีน ScHSF10 จากยอ 3 พันธุ์ จากการเปรียบเทียบพบความเหมือนในลำดับดีเอ็นเอและลำดับกรดอะมิโน คิดเป็น 97-99 เปอร์เซ็นต์ และ 97-100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากลำดับดีเอ็นเอและจำนวนโคลนแสดงให้เห็นว่ายีน ScHSF6 นั้นน่าจะมี ความหลากหลายมากกว่ายีน ScHSF10

ผลการเปรียบเทียบกับยีนในฐานข้อมูล GenBank พบว่าเหมือนกับยีน HSF กลุ่ม A ดังนั้นยีนที่แยกได้นี้ อาจจะเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ดังที่พบในพืช *Arabidopsis* (Ahuja *et al.*, 2010)

ผลการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลโปรตีน Pfam ของลำดับกรดอะมิโนของยีน ScHSF6 และยีน ScHSF10 พบว่าการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่พบในยีนทั้งสอง ไม่มีผลกระทบต่อบริเวณ motif ของทั้งสองโปรตีน แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงในยีน ScHSF6 และ ScHSF10 ที่แยกได้จาก

อ้อยในงานวิจัยนี้ ไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของโปรตีน HSF ในงานวิจัยขั้นต่อไปจะต้องแยกชิ้นทั้งสองให้ได้ชิ้นที่สมบูรณ์ซึ่งอาจจะพบความแตกต่างที่อาจจะมีผลกระทบต่อการทำงานของโปรตีน

ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนในอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 พบว่ายีน ScHSF6 จะแสดงออกเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิ 42 และ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นลดลงที่อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส ในขณะที่ยีน ScHSF10 แสดงออกคงที่ทุกอุณหภูมิ ข้อมูลนี้อาจจะบ่งบอกว่ายีน ScHSF6 น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงในอ้อยมากกว่ายีน ScHSF10

ดังนั้นคาดว่ายีน ScHSF6 ที่มีความหลากหลายของลำดับดีเอ็นเอและการแสดงออกเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิสูงน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในอ้อย