

ทิพาพรรณ บุญมา 2555: การถ่ายยีนเพื่อให้เกิด RNA interference ของยีนที่ใช้สังเคราะห์สารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, Dr.Agr. 72 หน้า

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่นำมาใช้เป็นอาหาร รวมทั้งยารักษาโรคต่างๆ เนื่องจากสารเคอร์คูมินอยด์ที่อยู่ในส่วนเหง้าของขมิ้นชัน มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างสารเคอร์คูมินอยด์เป็นยีนในกลุ่ม type III polyketide synthase ที่สำคัญ ได้แก่ ยีน *diketide Co-A synthase (DCS)* และ *curcumin synthase (CURS)* ในงานวิจัยนี้ได้ถ่ายยีน *DCS* และ *CURS1* เพื่อชักนำให้เกิด RNA interference โดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดและรากได้ ต่อมาทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *DCS* และ *CURS1* ขนาด 196 และ 229 คู่เบส ตามลำดับ และแทรกชิ้นส่วนยีนเข้าสู่พลาสมิดโดยอาศัยกระบวนการ Gateway® recombination จากนั้นถ่ายพลาสมิดเข้าสู่ยอดอ่อนขมิ้นชันโดยอาศัย *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 พบยอดที่สามารถเจริญบนอาหารคัดเลือกที่เติมยาปฏิชีวนะไฮโกรมัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 3 และ 4 ต้น (คิดเป็น 0.6 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ตรวจสอบการมีอยู่ของยีนโดยใช้ไพรเมอร์ของยีน *hygromycin phosphotransferase (hpt)* พบต้นที่มีแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 1 และ 4 ต้นตามลำดับ จากนั้นตรวจสอบการแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอ พบการแสดงออกของยีนทั้งในส่วนโคนต้นและใบ โดยต้นที่ได้รับการถ่ายยีน *DCS* และ *CURS1* ที่ตรวจพบยีนเครื่องหมายมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอและปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการทำปฏิกิริยารีเวอร์สทรานสคริปชันพีซีอาร์น้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน จำนวน 1 และ 2 ต้น ตามลำดับ แสดงว่าบริเวณที่ออกแบบยีน *DCS* และ *CURS1* ที่ใช้ในครั้งนี้เป็นบริเวณที่มีความสำคัญ สามารถลดการแสดงออกของยีนได้สำเร็จ