



รายงานวิจัย

เรื่อง

การโคลนยีน *chalcone reductase* (*CHR*) จากถั่วเหลือง

**Molecular Cloning of *Chalcone Reductase* (*CHR*) Gene  
from *Glycine max* (L.) Merr.**

นางสาวมณฑินี ชีรารักษ์

นางสาวนิตา ดวงกัมแสน

นางสาวนิภาพร ยลสวัสดิ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2548

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณหลักสูตรพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ได้สนับสนุนโครงการวิจัย เรื่อง การโคลนยีน *chalcone reductase (CHR)* จากถั่วเหลือง

## ชื่อโครงการวิจัย การโคลนยีน *chalcone reductase* (CHR) จากถั่วเหลือง

*Molecular Cloning of Chalcone Reductase (CHR) Gene from Glycine max (L.) Merr.*

แหล่งเงิน

เงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2548 จำนวนเงินที่ได้รับ 90,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2547 ถึง กันยายน 2548

ผู้ดำเนินงานวิจัยพร้อมหน่วยงานต้นสังกัดและอีเมลล์

1. นางสาวมณฑินี ชีรารักษ์ หัวหน้าโครงการวิจัย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520 E-mail: ktmontin@kmitl.ac.th

2. นางสาววนิดา ดวงกึ่งแสน ผู้ร่วมโครงการวิจัย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520 E-mail: kdwanida@kmitl.ac.th

3. นางสาวนิภาพร ยลสวัสดิ์ ผู้ร่วมโครงการวิจัย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520 E-mail: kynipapo@kmitl.ac.th

คำสำคัญ (Keywords) ถั่วเหลือง, การโคลนยีน, ยีน *chalcone reductase*

### บทคัดย่อ

ในการโคลนยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ *chalcone reductase* (CHR) ด้วยเทคนิค Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) จากต้นถั่วเหลืองที่ได้รับแสงอัลตราไวโอเล็ต โดยเริ่มต้นจากการแยกอาร์เอ็นเอรวมจากต้นถั่วเหลืองที่แยกได้โดย Perfect RNA TM, Eukaryotic Mini Kit และนำมาสังเคราะห์ complementary DNA (cDNA) สายแรก ด้วยไพรเมอร์ oligo(dT)<sub>15</sub> ตามวิธี ImProm-II™ Reverse Transcriptase system และนำ cDNA มาใช้เป็นต้นแบบในการเพิ่มปริมาณยีน *chalcone reductase* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ 2 ชนิด คือ ไพรเมอร์ CHR1 (sense) มีการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโน SAPDFTC และมีการจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ คือ 5'-ATC TGC CCC TGA CTT CAC ATG-3' และ ไพรเมอร์ CHR2 (antisense) มีการจัดเรียงลำดับกรดอะมิโน LYEQGVV และมีการจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ คือ 5'-ATG TCA CAC CTT GTT CGT ACA ACC -3' ทำการเพิ่มชิ้นดีเอ็นเอที่เป็นยีน *chalcone reductase* ด้วยไพรเมอร์ CHR1 (sense) และ ไพรเมอร์ CHR2 (antisense) พบว่าเมื่อศึกษาการจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์มีขนาด 701 คู่เบส โดยกำหนดการสร้างโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 233 เรซิดิว

## Abstract

*Glycine max* ( L.) Merr. was grown under standard greenhouse conditions. For isolation of *chalcone reductase* gene by Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), the template cDNA was prepared from UV-treated seedlings. Total RNA was isolated from the seedling according to Perfect RNA TM, Eukaryotic, Mini Kit and first-strand cDNA was synthesized with oligo(dT<sub>15</sub>)-anchor primer using ImProm-II<sup>TM</sup> Reverse Transcriptase system. The specific primer CHR1 (sense) was based on the peptide sequences SAPDFTC with the nucleotide sequence 5'-ATC TGC CCC TGA CTT CAC ATG-3' and another CHR2 (antisense) was based on the peptide sequences LYEQGVT with the nucleotide sequence 5'-ATG TCA CAC CTT GTT CGT ACA ACC -3'. We amplified a DNA fragment of *chalcone reductase* gene by using specific primers CHR1 (sense) and CHR2 (antisense). The sequence of *chalcone reductase* gene is 701 base pairs long and contains an open reading frame of 233 residues.