

กัญญา แซ่เตียว 2549: การถ่ายยีน VP1 จากเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าสู่ตัวฮามาต้า
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร
โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสริมศิริ
จันทร์เปรม, Ph.D. 113 หน้า
ISBN 974-16-1515-9

การถ่ายยีน VP1 ที่สร้างโปรตีนที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าสู่เซลล์ของตัวฮามาต้า
โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่มีพลาสมิด pCABVP1 เป็นพาหะ พลาสมิด
pCABVP1 นี้ประกอบด้วยยีน VP1 และยีน *hpt* เป็นยีนคัดเลือก และยีนทั้งสองนี้มีโปรโมเตอร์ CaMV35S
โดยในการถ่ายยีนใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ *A. tumefaciens* ซึ่งมีค่า OD₆₀₀ ในช่วง 0.6-1.0 และระยะเวลา
co-cultivation 2 วัน ถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์ตัวฮามาต้าที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนของ hypocotyl โดยให้อาหารสูตร
MS ที่เติม 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร รุน 8 กรัมต่อลิตร pH 5.7 พบว่าจากจำนวน
เซลล์ที่ถ่ายยีนทั้งหมด 2,200 ชิ้น ได้เซลล์ที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารคัดเลือกที่เติมสารปฏิชีวนะ
ไฮโอมัยซิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวน 131 ชิ้น จากนั้นนำเซลล์ที่รอดชีวิตมาชักนำให้เกิดยอดบนอาหาร
สูตร MS ที่เติม BA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำยอดจำนวน 300 ยอดมาชักนำให้ออกรากแล้วนำตรวจสอบ
การมีอยู่ของยีน VP1 และยีน *hpt* ด้วยวิธี PCR พบว่ามีการคงอยู่ของยีน VP1 อย่างเดียวจำนวน 93 ต้น และ
ยีน *hpt* อย่างเดียวจำนวน 97 ต้น และต้นที่พบทั้ง 2 ยีนจำนวน 75 ต้น เมื่อนำต้นที่ตรวจพบยีนไปยืนยันผล
ด้วยวิธี dot blot hybridization จำนวน 50 ต้นพบว่าทุกต้นยีน VP1 อยู่ จากนั้นตรวจสอบจำนวนชุดของยีน
VP1 ที่ถูกถ่ายยีนเข้าไปในตัวฮามาต้าด้วยวิธี Southern blot ซึ่งจากการทดสอบจำนวน 6 ต้น พบว่าบางต้นมี
การสอดแทรกของยีน VP1 ในจีโนมของตัวฮามาต้า 1 ตำแหน่งแต่บางต้นมี 2 ตำแหน่ง เมื่อนำต้นที่ผ่านการ
ตรวจสอบโดยวิธี Southern blot แล้วมาตรวจสอบการแสดงออกของยีนโดยวิธี RT-PCR จำนวน 2 ต้น พบว่ามี
การแสดงออกของยีน VP1 ในทั้ง 2 ต้น และเมื่อนำ 2 ต้นที่ได้มาตรวจสอบด้วยวิธี western blot โดยใช้ซีรัม
ของหนูที่ติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยพบว่า 1 ต้นที่มีการแสดงออกของโปรตีน VP1

กัญญา แซ่เตียว

ลายมือชื่อนิสิต



ลายมือชื่อประธานกรรมการ

16 / 1 / 2549