

ณัฐนันท์ วิบูลย์โชติกร 2555: การศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลของยีนและโปรตีน Nucleocapsid และ Non-Structural ของ Melon yellow spot virus ที่เข้าทำลายเมลอนในประเทศไทย ปรินญาวิทยา ศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการ ระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิศสุวรรณ เข้มสมบัติ, Dr.Agr. 71 หน้า

Melon yellow spot virus (MYSV) เป็นไวรัสสาเหตุโรคพืชที่จัดอยู่ในจีโนมทอสพอไวรัส เข้าทำลายพืชในวงศ์แตง ทำให้ปริมาณผลผลิตลดลงและเสียคุณภาพ ในประเทศไทยมีการผลิตและใช้แอนติซีรัมเพื่อตรวจสอบทอสพอไวรัสหลายชนิด แต่มักพบการทำปฏิกิริยาข้ามชนิดกัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษายีนและโปรตีน non-structural (NSs) เพื่อใช้ประโยชน์ในการผลิตแอนติซีรัมสำหรับตรวจสอบเชื้อ MYSV เก็บตัวอย่างพืช 5 ชนิดที่แสดงอาการใบจุดประหลาดจากแปลงปลูกในจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา และเพชรบุรี จำนวน 321 ตัวอย่าง ตรวจสอบเชื้อ MYSV ใน 111 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค DAC-ELISA และเก็บตัวอย่างจากจังหวัดกาญจนบุรีและนครราชสีมา ตรวจสอบเชื้อ 20 ตัวอย่าง จาก 29 ตัวอย่าง เลือกตัวอย่างเชื้อไอโซเลท SUT ซึ่งแยกได้จากเมลอนมาใช้ในการศึกษายีนที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีน nucleocapsid (N) และ non-structural (NSs) โดยออกแบบไพรเมอร์และสังเคราะห์ดีเอ็นเอของยีน N และ NSs ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่ายีน N มีขนาด 840 นิวคลีโอไทด์ แปรรหัสได้กรดอะมิโน 280 เรซิดิวส์ มีน้ำหนักโมเลกุล 31.159 กิโลดาลตัน มีความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนกับเชื้อ MYSV ไอโซเลท W3-Kalasin และ Ph122 ซึ่งพบในแตงโมและโองเทงจากประเทศไทย และ Tospo-melo ซึ่งพบในเมลอนจากประเทศญี่ปุ่นมากที่สุดที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ ยีน NSs มีขนาด 1,410 นิวคลีโอไทด์ แปรรหัสได้กรดอะมิโน 470 เรซิดิวส์ มีน้ำหนักโมเลกุล 53.169 กิโลดาลตัน มีความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนกับเชื้อ MYSV ไอโซเลท TW ซึ่งพบในแตงโมจากประเทศไต้หวันมากที่สุดที่ระดับ 97.7 เปอร์เซ็นต์ โคลนยีน NSs เข้ากับพลาสมิดพาหะของ pQE expression system เพื่อสังเคราะห์โปรตีน NSs ในสภาพหลอดทดลองในเซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้โปรตีนลูกผสม 6xHis-NSs ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 54.764 กิโลดาลตัน มีความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้เป็นแอนติเจนฉีดกระต่าย โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรตีน 6xHis-NSs ที่ผลิตได้ (Pab-MYSV-NSs) มีค่าไตเตอร์อยู่ในช่วง 800-3,200 ทำปฏิกิริยากับเชื้อ MYSV ในใบแตงร้านเมื่อทดสอบด้วย DAC-ELISA และทำปฏิกิริยากับเชื้อ MYSV ในใบแตงร้านและใบเมลอน เมื่อทดสอบด้วย Dot immunobinding assay (DIBA) โดยไม่ทำปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อ *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV), *Capsicum Chlorosis virus* (CaCV) และ *Tomato necrotic ringspot virus* (TNRV)