

ศิริรัตน์ วรรณภินพงศ์ 2551: การโคลนยีนและการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *CHS-like* ที่สัมพันธ์กับการสังเคราะห์เทอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, D. Agr. 55 หน้า

การโคลนยีนส่วนยีน *CHS-like* ของขมิ้นชัน เริ่มต้นโดยการเพิ่มปริมาณยีนด้วยวิธี nested PCR ทำให้ได้ยีนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 850 คู่เบส ซึ่งสามารถนำยีนดีเอ็นเอดังกล่าวไปเชื่อมต่อกับพลาสมิด pGEM®-T Easy ต่อไป เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของยีนดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิด พบว่ามีเพียง 4 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *AluI*, *HinII*, *MboI* และ *RsaI* ที่แสดงรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันรวม 6 แบบ และพบว่ายีน 6 รูปแบบนี้มีลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงกับส่วนของยีน *CHS-like* ของพืชชนิดอื่นอีกหลายชนิด ผลของ Southern blot hybridization พบว่าจีโนมของขมิ้นชันมีจำนวนชุดของยีนอย่างน้อย 5 ชุด ทั้งนี้เมื่อใช้เทคนิค TAIL-PCR สามารถโคลนและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีน *CHS-like* ได้ 3 ยีน คือ *CICH1*, *CICH2* และ *CICH3* พบว่าประกอบด้วย เอกซอน 2 เอกซอน โดยเอกซอนที่ 1 มีกรดอะมิโนอยู่ 64 ตัว ส่วนเอกซอนที่ 2 มีกรดอะมิโนอยู่ 223-330 ตัว และมีอินตรอน 1 ตำแหน่ง ขนาด 82-95 คู่เบส อยู่ระหว่างเอกซอนทั้งสอง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาแปลเป็นกรดอะมิโน และเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของยีนกลุ่มนี้ในพืชชนิดอื่น พบค่าความเหมือนประมาณ 50-60% และยังพบบริเวณ active site, CoA binding site, กรดอะมิโนส่วนอนุรักษ์ของ CHS superfamily enzymes รวมทั้งส่วน substrate specificity ของยีน *CHS-like* อีกด้วย ทั้งนี้เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของยีน *CHS* และ *CHS-like* ของพืชอื่นรวมทั้งหมด 18 ชนิด พบว่ายีน *CICH1*, *CICH2* และ *CICH3* จัดอยู่ในกลุ่มของพืชมีดอก และจัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันแยกจากกลุ่มย่อยอื่น การแสดงออกของยีน *CHS-like* ในขมิ้นชันพบมากที่สุดในส่วนของแ่งที่มีขนาดเล็ก (น้อยกว่า 2 เซนติเมตร) และ ค่อย ๆ ลดลงในส่วนที่มีขนาดยาวขึ้นตามลำดับ