

ศิริกาญจน์ กอบเกียรติคุวิต 2554: การโคลนและศึกษาการแสดงออกของยีนเลกตินจากกล้าวยไม้สกุลสิงโต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาวิชาพันธุวิศวกรรม โครงการสาขาวิชาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์พัฒนา ศรีฟ้า อุณเนอร์, Ph.D. 79 หน้า

สารโพลีแซคคาไรด์ในกล้าวยไม้เป็นปัญหาหลักต่อการสกัดกรดนมิวคลีอิก การศึกษาในครั้งนี้ได้พัฒนาเทคนิคการสกัดอาร์เอ็นเอจากกล้าวยไม้อ่อนง่ายและมีประสิทธิภาพ โดยการใช้โซเดียมเพอโรไอดेट ( $\text{NaIO}_4$ ) ในการกำจัดสารโพลีแซคคาไรด์ อาร์เอ็นเอที่แยกได้มีคุณภาพดีพอที่จะนำไปโคลนยืนได้ ดังนั้นการโคลนยีนเลกตินแบบครบสมบูรณ์จากกล้าวยไม้สิงโตร่วงข้าวจึงประสบความสำเร็จ ยืนที่โคลนได้มีขนาดความยาว 806 คู่เบส กำหนดลำดับกรดอะมิโนของสายโพลีเปปไทด์ที่มี 1 open reading frame (ORF) ขนาด 176 เรสซิดิวส์ นอกเหนือนี้ข้างได้โคลนยีนเลกตินบางส่วนจากปลาย 5' ในกล้าวยไม้สิงโตร่วงทอง และปลาย 3' จากกล้าวยไม้สิงโตสมอหิน ขนาด 245 และ 363 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำมาลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนเลกตินที่ได้จากกล้าวยไม้สิงโตร่วงข้าวกล้าวยไม้สิงโตร่วงทอง และกล้าวยไม้สิงโตสมอหิน มีความใกล้เคียงกับโปรตีนเลกตินของกล้าวยไม้ลูกผสมซึ่งบิเดียม ร้อยละ 62, 73 และ 74 ตามลำดับ จากการทำนายโครงสร้างติดภูมิของโปรตีนเลกตินในกล้าวยไม้สิงโตร่วงข้าวประกอบด้วย 3 domain ซึ่งมีโครงสร้างของโปรตีนเป็นแผ่นชั้นกันแบบ  $\beta$ -sheets ในแต่ละ domain เป็นบริเวณ mannose-binding site และจากการศึกษาการแสดงออกของยีนเลกตินในกล้าวยไม้สิงโตร่วงข้าว พบมากที่สุดในส่วนใบ เมื่อเปรียบเทียบกับอาร์เอ็นเอที่แยกจากกล้าวย และราก ด้วยวิธี Real-Time Quantitative PCR