การวิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของยีน ในยางพันธุ์เพื่อเนื้อไม้

Quantitative Gene Expression of Cinnamyl-Alcoholdehydrogenase (CAD) In Wood Timber Rubber Trees

กุหลาบ คงทอง ประสาน สืบสุข[1]

กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

รายงานความก้าวหน้า

DNA sequence of CAD (Cinnamyl-Alcoholdehydrogenase) gene that play the importance role of lignin synthesis in *Eucarlyptus globul*, *Populus tremuloid*, *P. deltoids*, *Eucarlyptus* salign, *Populus balsamife*, *Saccharum officin*, *Fragaria xananas* and *M. sative* from genebank information were taken to identify similar DNA sequence by using comparative of multiple alignment. The indentical base sequence could be used as primer to amplify CAD gene part from cDNA of Chachengsao 50 Para rubber. The base sequence was 542 bp. When compared the base sequence to CAD gene parts of the other plants, it was found that highest similarity to *Eucarlyptus salign* by 49.7 % identity.

Lux primer design by using the sequence of gene parts and examining specificity revealed that the primer could amplify only one band of Chachengsao 50 Para rubber gene part which was 96 bp, it was found that the obtained primer could be used to detect quantity of gene expression by using Quantitative Real Time RT-PCR technique.

รหัสกิจกรรม 05-01-47-03

รหัสการทดลอง 05-01-47-0303

จากการนำลำดับเบสของยีน CAD (cinnamyl-alcoholdehydrogenase) ซึ่งเป็นยีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ลิกนินในพืชจากฐานข้อมูล GenBank ของ *Eucalyptus globul, Populus tremuloid, Populus deltoides, Eucalyptus salign, Populus balsamife, Saccharum officin, Fragaria x ananas* และ *M. sativa* มาหาลำดับเบสส่วนที่เหมือนกันโดยใช้วิธีการเปรียบเทียบ Multiple Alignment พบลำดับเบสที่เหมือนกันและใช้เป็น primer สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีนจาก cDNA ในยางพาราพันธุ์ฉะเชิงเทรา 50 ได้ เมื่อนำไปหาลำดับเบสพบว่าชิ้นดีเอ็นเอมีขนาด 542 bp. และเมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสของชิ้นส่วนยีนกับยีน CAD ในพืชชนิดอื่นๆ พบลำดับเบสส่วนที่เหมือนกัน มากที่สุดกับ *Eucalyptus salign* โดยมีค่า Identity 49.7%

ทำการออกแบบ LUX primer โดยใช้ลำดับการเรียงตัวของดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบความจำเพาะ พบว่า primer ที่ได้สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีนจากยางพาราพันธุ์ฉะเชิงเทรา 50 ได้เพียงแถบเดียว ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 96 bp. และ primer ดังกล่าวสามารถใช้ตรวจสอบปริมาณการแสดงออกของชิ้นส่วนยีนที่โคลนได้ในใบของยางพาราพันธุ์ฉะเชิงเทรา 50 ด้วยเทคนิค Quantitative Real-Time RT-PCR